Всероссийская
научно-практическая конференция
с международным участием

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

приурочена к юбилею
академика РАН Софронова Г.А.

МАТЕРИАЛЫ

15-17 октября 2026
iem.congress-ph.online

Главное здание
Санкт-Петербургского отделения
Российской академии наук

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации

Министерство здравоохранения Российской Федерации

Правительство Санкт-Петербурга

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Институт экспериментальной медицины»

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Санкт-Петербургское отделение Российской академии наук»

Комитет по науке и высшей школе Правительства Санкт-Петербурга

Комитет по здравоохранению Правительства Санкт-Петербурга

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Санкт-Петербургский государственный университет»

Санкт-Петербургская общественная организация «Человек и его здоровье»

Общество с ограниченной ответственностью «Медицинский конгресс»

Всероссийская научно-практическая
конференция с международным участием

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

приурочена к юбилею
академика РАН Софронова Г.А.

МАТЕРИАЛЫ

15-17 октября 2026

iem.congress-ph.online

Научное издание

Всероссийская научно-практическая конференция
с международным участием **«Экспериментальная медицина»**.
Приурочена к юбилею акад. Софронова Г.А.

Материалы
СПб.: 2026. – 548 с.

Рецензент: Жданов К.В.
Член-кор. РАН, заместитель директора ФГБНУ «ИЭМ»
по науке и трансляционной медицине

Сборник подготовлен на основе материалов, присланных авторами. Редакция не несет ответственности за содержание опубликованной информации.

Технический редактор:
Мадеева М.А.
Дизайн, верстка:
Куделина Т.П.

© «Человек и его здоровье», составление, оформление, 2026
© Коллектив авторов, 2026





Всероссийская научно-практическая
конференция с международным участием

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

приурочена к юбилею
академика РАН Софронова Г.А.

СТАТЬИ

РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ ПО МАРКЕРАМ НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ В МОДЕЛИ УДАРНО-ВЗРЫВНОЙ ТРАВМЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Ал Лабед А.[1,2], Ереско С.О.[1], Айрапетов М.И.[1], Асатрян Т.Т.[3], Шабанов П.Д.[1]

[1]Институт экспериментальной медицины,
[2]Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,
[3]Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

Аннотация. *Цель работы — разработать и верифицировать экспериментальную модель ударно-взрывной травмы (УВВ) головного мозга, определить оптимальное диагностическое окно по маркерам нейровоспаления в гиппокампе и оценить нейропротекторный потенциал четырёх фармакологических средств при посттравматической энцефалопатии (ПТЭ). Методика: на самцах крыс Wistar (n=91) моделировали УВВ оригинальной пневматической камерой (пиковое давление 125±8 кПа). Оценивали неврологический дефицит, поведение («Открытое поле», приподнятый крестообразный лабиринт, тест Барнса), состав крови и экспрессию генов (Il1β, Il6, Ccl2, Hmgb1, Casp1, NF-κB) методом ПЦР в реальном времени. Результаты: подтверждена двухфазная динамика нейровоспаления с пиком экспрессии всех генов на 7-е сутки (рост в 2,3–3,4 раза), что задаёт точку ранней диагностики. Двукратное воздействие УВВ вызывало устойчивый моторный дефицит, тревожность и нарушение пространственной памяти. Наилучший нейропротекторный профиль показали кисспептин-10 и ИЭМ-1460 в низкой дозе; высокая доза ИЭМ-1460 обладала аксиогенным действием без нейропротекции.*

Ключевые слова: *ударная воздушная волна, посттравматическая энцефалопатия, нейровоспаление, гиппокамп, биомаркеры, нейропротекция, кисспептин-10.*

Введение. Черепно-мозговые травмы, вызванные ударной воздушной волной (УВВ), составляют до 22 % боевых потерь и часто протекают без видимых повреждений — так называемая «невидимая» травма [1]. Даже однократное воздействие способно запустить хроническое нейровоспаление, которое через месяцы клинически проявляется посттравматической энцефалопатией (ПТЭ) со снижением памяти, тревожностью и двигательными нарушениями [2, 3]. До настоящего времени достоверная верификация ПТЭ возможна преимущественно посмертно, поэтому актуален поиск прижизненных молекулярных маркеров ранней диагностики [4].

Ведущим механизмом ПТЭ является нейровоспаление с фазовой активацией микроглии и астроцитов. Наиболее информативны интерлейкин-1β (Il1β), высокоподвижный групповой белок B1 (Hmgb1), хемокин Ccl2 и интерлейкин-6 (Il6), а также каспаза-1 (Casp1) как маркёр активации инфламмасомы NLRP3 и транскрипционный фактор NF-κB [5, 6]. Однако трансляционная верификация этих маркеров ограничена нехваткой стандартизированных установок для моделирования УВВ с полным описанием физических параметров волны, а эффективная фармакологическая коррекция нейровоспаления при ПТЭ остаётся нерешённой задачей [7, 8].

Настоящая работа объединяет три задачи проекта: верификацию оригинальной пневматической модели УВВ, определение диагностического окна по маркерам нейровоспаления и оценку нейропротекторного потенциала четырёх фармакологических средств.

Цель. Разработать и верифицировать экспериментальную модель ударно-взрывной травмы головного мозга у крыс, определить оптимальное диагностическое окно по маркерам нейровоспаления в гиппокампе и оценить нейропротекторный эффект мексидола, доксициклина, кисспептина-10 и ИЭМ-1460 при посттравматической энцефалопатии.

Материалы и методы. Животные. Исследование выполнено на самцах крыс Wistar массой 220–300 г. В серии верификации модели (серия 1) использовано 43 животных: интактная группа (n = 7), контроль-анестезия без УВВ (n = 16) и опытная группа (n = 20). В фармакологической серии (серия 4, двукратное воздействие УВВ) 48 животных распределены на 8 групп (n ≈ 4–8): интактный контроль, опыт (УВВ + физиологический раствор) и шесть групп терапии. Все процедуры одобрены биоэтическим комитетом ФГБНУ «ИЭМ» (протокол № 04/2024 от 15.03.2024) в соответствии с директивой 2010/63/ЕС; исследование соответствует рекомендациям ARRIVE 2.0.

Моделирование УВВ. Применяли оригинальную пневматическую установку с цилиндрической камерой из стали Ст3 (внутренний диаметр 200 мм, длина 500 мм, объём 15,7 л, толщина стенки 3 мм, болтовое соединение М8 по DIN 933/934). Источник давления — патроны Hilti D4. Параметры волны регистрировали пьезоэлектрическим датчиком: пиковое избыточное давление 125 ± 8 кПа, длительность положительной фазы 4,2 ± 0,3 мс, импульс 262 ± 18 кПа·мс. Анестезия — хлоралгидрат 300 мг/кг внутрибрюшинно.

Препараты. Курс терапии начинали после подтверждения пика нейровоспаления: мексидол 100 мг/кг/сут; доксициклин 50 и 100 мг/кг/сут; кисспептин-10 50 нмоль/кг/сут; ИЭМ-1460 (неконкурентный блокатор AMPA-рецепторов) 1 и 4 мг/кг/сут.

Методы оценки. Неврологический дефицит определяли по шкале НПД (0–14 баллов) сразу после воздействия. Поведение исследовали в тестах «Открытое поле», «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) и Барнса (EthoVision XT v.16). Выполняли клинический анализ крови. Экспрессию генов Il1β, Il6, Ccl2, Hmgb1, Casp1 и NF-κB в гиппокампе определяли методом ПЦР в реальном времени (2^(−ΔΔCt)) с нормировкой на референсные гены.

Статистика. В серии 1 применяли непараметрический критерий Краскела–Уоллиса с апостериорным критерием Данна; данные — медиана [Q1; Q3]. В серии 4 применяли однофакторный дисперсионный анализ (one-way ANOVA) с критерием Тьюки; данные — M ± СОС. Результаты измерений представлены в единицах СИ. Критический уровень значимости p = 0,05.

Результаты и обсуждение. Верификация модели и диагностическое окно. Сразу после УВВ балл НПД в опытной группе достоверно превышал контроль и интактных животных (9,7 ± 1,0 против 6,5 ± 0,7 и 0,8 ± 0,1; H = 31,4; p < 0,001). В тесте «Открытое поле» на 2-е сутки регистрировали снижение двигательной активности, а к 7-м суткам — гиперактивность и нарастание тревожности (p < 0,05). Ключевой результат получен на молекулярном уровне: в гиппокампе выявлена двухфазная динамика нейровоспаления — раннее подавление Il6 на 2-е сутки сменялось достоверным ростом всех четырёх маркеров на 7-е сутки (таблица 1). Именно 7-е сутки являются оптимальной точкой ранней диагностики и оценки эффекта нейропротекторов.

Таблица 1.

Экспрессия генов нейровоспаления в гиппокампе (медиана, усл. ед.) и кратное изменение опыта к 7-м суткам (серия 1)

Ген	Опыт, 2-е сут.	Опыт, 7-е сут.	Кратн. изм.	p (7-е сут.)
Il1β	1,00	2,75	~2,3×	< 0,05
Hmgb1	0,60	1,30	~2,6×	< 0,05
Ccl2	0,60	0,75	~3,4×	< 0,05
Il6	0,45 ↓	2,10	~2,3×	< 0,05

Примечание: ↓ — достоверное снижение против контроля; кратное изменение рассчитано как отношение медиан опыт/контроль на 7-е сутки.

Лейкоцитарная реакция крови. Изменения крови при УВВ носили преимущественно лейкоцитарный характер и отражали двухфазную динамику иммунного ответа (таблица 2). В острую фазу (2-е сутки, серия 1) в опытной группе выявлен гранулоцитарный (нейтрофильный) сдвиг: доля гранулоцитов возрастала с 18,4 до 26,3 % ($p = 0,004$), что характерно для активации врождённого иммунитета в ответ на первичное повреждение. При хроническом течении ПТЭ (22-е сутки, серия 4) регистрировали лейкоцитоз — достоверное повышение общего числа лейкоцитов ($p = 0,044$) за счёт абсолютного лимфоцитоза (12,12 ± 0,74 против 8,88 ± 0,88 $\times 10^9$/л в контроле; $p < 0,05$). Это указывает на переключение с врождённого на адаптивное (лимфоцитарное) звено иммунитета по мере хронизации нейровоспаления. Наибольший лимфоцитоз отмечен при введении кисспептина-10 (15,53 ± 1,52 $\times 10^9$/л), что согласуется с его выраженным иммуномодулирующим действием. Эритроцитарные показатели значимо не изменялись, за исключением умеренной гематотоксичности доксициклина в высокой дозе. Таким образом, лейкоцитарная формула крови может служить доступным периферическим коррелятом стадии нейровоспаления при ПТЭ.

Таблица 2.

Лейкоцитарные показатели крови при УВВ в динамике

Показатель (срок)	Контроль	Опыт (УВВ)	p
Гранулоциты, % (2-е сут.)	18,4 [16,2; 20,7]	26,3 [22,8; 29,5]	0,004
Лейкоциты, $\times 10^9$/л (22-е сут.)	—	повышены	0,044
Лимфоциты, $\times 10^9$/л (22-е сут.)	8,88 ± 0,88	12,12 ± 0,74	< 0,05

Примечание: гранулоциты — серия 1, Me [Q1; Q3], критерий Краскела–Уоллиса; лейкоциты и лимфоциты — серия 4, M ± m, однофакторный дисперсионный анализ. Прочерк — количественные значения не приведены (значим факт различия по ANOVA).

Поведенческий фенотип ПТЭ. Двукратное воздействие УВВ (серия 4) формировало устойчивый фенотип ПТЭ: к 21-м суткам двигательная активность в группе опыта снижалась почти вдвое относительно контроля (55,3 ± 12,3 против 106,0 ± 11,9 м; $p < 0,05$), индекс тревожности в ПКЛ возрастал (0,915 ± 0,055 против 0,335 ± 0,146; $p < 0,001$), а в

тесте Барнса выявлено грубое нарушение пространственной памяти (p = 0,0009). Таким образом, модель воспроизводит основные клинические домены ПТЭ — моторный, аффективный и когнитивный.

Фармакологическая коррекция. Наилучший нейропротекторный профиль показали кисспептин-10 и ИЭМ-1460 в низкой дозе (1 мг/кг). Кисспептин-10 полностью восстанавливал двигательную активность (106,0 ± 11,6 м) и нормализовал тревожность (25,6 ± 8,9 усл. ед. в «Открытом поле»), а на молекулярном уровне сопровождался наибольшим снижением Hmgb1, Casp1 и NF-κB. ИЭМ-1460 в низкой дозе нормализовал тревожность в «Открытом поле» и ПКЛ и снижал экспрессию Hmgb1 и NF-κB. Важно, что высокая доза ИЭМ-1460 (4 мг/кг) давала обратный, аксиогенный эффект (тревожность 80,3 ± 17,7 усл. ед. на 2-е сутки) и не обеспечивала нейропротекции — то есть эффект препарата дозозависимо инвертируется. Доксициклин в высокой дозе восстанавливал моторику, но проявлял гематотоксичность и парадоксально повышал NF-κB; мексидол давал частичный эффект (таблица 3).

Таблица 3.

Сводная оценка нейропротекторной эффективности препаратов (серия 4)

Группа	Моторика	Тревожность	Память	Молек. эффект
Кисспептин-10	восстановл.	норма	восстановл.	сильный ↓
ИЭМ-1460 (1 мг/кг)	хорошо	норма	восстановл.	↓
Доксициклин (100)	восстановл.	нет	нет	NF-κB ↑
Мексидол (100)	частично	нет	частично	умеренный
Доксициклин (50)	частично	нет	частично	слабый
ИЭМ-1460 (4 мг/кг)	нет	аксиогенно	нет	слабый

Примечание: «↓» — снижение экспрессии генов нейровоспаления относительно опыта; «↑» — повышение. Различия по данным ПЦР не достигли статистической значимости ввиду малого объёма выборки (n = 3–5), однако выявленные тенденции биологически согласованы.

Обсуждение. Рост Il1β и Hmgb1 к 7-м суткам согласуется с двухволновой кинетикой инфламмасомы NLRP3 и активацией пути TLR4/RAGE. Совпадение молекулярного пика с нарастанием тревожности подтверждает патогенетическую роль нейровоспаления в развитии ПТЭ. Полученные данные обосновывают панель Il1β/Il6/Ccl2/Hmgb1 как перспективный инструмент ранней диагностики, а кисспептин-10 и ИЭМ-1460 в низкой дозе — как приоритетные кандидаты для дальнейшего изучения. Основные ограничения — малый объём выборки для ПЦР и необходимость верификации на уровне белка, что запланировано в последующих сериях.

Заключение. Разработанная пневматическая установка с документированными геометрическими и физическими параметрами воспроизводит биологически значимую двухфазную нейровоспалительную реакцию с пиком на 7-е сутки и устойчивый поведенческий фенотип посттравматической энцефалопатии. Это создаёт основу как для ранней диагностики по маркерам нейровоспаления, так и для оценки нейропротекторных средств.

Выводы.

1. Оригинальная пневматическая модель УВВ верифицирована по неврологическому, поведенческому, гематологическому и молекулярному уровням.

2. Оптимальное диагностическое окно — 7-е сутки после воздействия, когда экспрессия Il1β, Il6, Ccl2 и Hmgb1 возрастает в 2,3–3,4 раза.

3. Двукратное воздействие УВВ формирует устойчивый фенотип ПТЭ с моторным дефицитом, тревожностью и нарушением пространственной памяти.

4. Наибольший нейропротекторный эффект показали кисспептин-10 и ИЭМ-1460 в дозе 1 мг/кг; высокая доза ИЭМ-1460 (4 мг/кг) обладает аксиогенным действием без нейропротекции.

Список литературы:

1. *Siedhoff H.R. Perspectives on primary blast injury of the brain: translational insights into non-inertial low-intensity blast injury / H.R. Siedhoff, S. Chen, H. Song [et al.] // Frontiers in Neurology. – 2022. – Vol. 12. – Art. 818169. – DOI: 10.3389/fneur.2021.818169.*
2. *De Gasperi R. Progressive transcriptional changes in the amygdala implicate neuroinflammation in the effects of repetitive low-level blast exposure in male rats / R. De Gasperi, M.A. Gama Sosa, G.S. Perez Garcia [et al.] // Journal of Neurotrauma. – 2023. – Vol. 40, № 5–6. – P. 561–577. – DOI: 10.1089/neu.2022.0282.*
3. *Heyburn L. Repeated low-level blast acutely alters brain cytokines, neurovascular proteins, mechanotransduction, and neurodegenerative markers in a rat model / L. Heyburn, R. Abutarboush, S. Goodrich [et al.] // Frontiers in Cellular Neuroscience. – 2021. – Vol. 15. – Art. 636707. – DOI: 10.3389/fncel.2021.636707.*
4. *Halicki M.J. Blood-based biomarkers in the diagnosis of chronic traumatic encephalopathy / M.J. Halicki, K. Hind, P.L. Chazot // International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Vol. 24, № 16. – Art. 12556. – DOI: 10.3390/ijms241612556.*
5. *Xu K. HMGB1-mediated neuroinflammatory responses in brain injuries: mechanisms and therapeutic targets / K. Xu, M. Wang, H. Wang [et al.] // Journal of Advanced Research. – 2024. – Vol. 59. – P. 79–96. – DOI: 10.1016/j.jare.2023.06.003.*
6. *Amlerova Z. Reactive gliosis in traumatic brain injury: a comprehensive review / Z. Amlerova, M. Chmelova, M. Anderova, L. Vargova // Frontiers in Cellular Neuroscience. – 2024. – Vol. 18. – Art. 1335849. – DOI: 10.3389/fncel.2024.1335849.*
7. *Posti J.P. Blood biomarkers for traumatic brain injury: a narrative review of clinical utility and future directions / J.P. Posti, O. Tenovuo // Brain & NeuroRehabilitation. – 2024. – Vol. 17, № 1. – Art. e8. – DOI: 10.12786/bn.2024.17.e8.*
8. *Hubbard W.B. Differential leukocyte and platelet profiles in distinct models of traumatic brain injury: implications for biomarker discovery / W.B. Hubbard, M. Banerjee, H. Vekaria [et al.] // Cells. – 2021. – Vol. 10, № 3. – Art. 500. – DOI: 10.3390/cells10030500.*
9. *Bergauer A. Fluid and imaging biomarkers for chronic traumatic encephalopathy: diagnostic potential and clinical translation / A. Bergauer, R. van Osch, S. van Elferen [et al.] // Biomedicine & Pharmacotherapy. – 2022. – Vol. 146. – Art. 112602. – DOI: 10.1016/j.biopha.2021.112602.*

10. Livak K.J. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(−ΔΔCt) method / K.J. Livak, T.D. Schmittgen // Methods. – 2001. – Vol. 25, № 4. – P. 402–408. – DOI: 10.1006/meth.2001.1262.

✶ ✶ ✶

ОНТОГЕНЕЗ-ОПОСРЕДОВАННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ УДЕЛЬНОГО СОДЕРЖАНИЯ МЕДИ В ОРГАНИЗМЕ *CAENORHABDITIS ELEGANS* С МУТАЦИЕЙ H828Q В CUA-1, ОРТОЛОГЕ ATP7B ЧЕЛОВЕКА

Баикина С.А.[1,2], Самусева П.Д.[2]

[1]Санкт-Петербургский политехнический университет им. Петра Великого,
[2]Институт экспериментальной медицины,
Санкт-Петербург

Аннотация. *Выявление онтогенетических особенностей накопления меди и серебра у Caenorhabditis elegans дикого типа (WT) и штамма cua-1^{H828Q}, моделирующего медь-ассоциированные нарушения, необходимо для понимания механизмов развития данных социально значимых заболеваний и подбора стадии для анализа потенциальных хелаторов меди. Полученные результаты показали, что в контроле у WT максимум накопления Cu приходились на стадии L3 и young adult (Yad), тогда как у cua-1^{H828Q} повышение наблюдалось на стадии L2 и L4. При добавлении в среду $CuCl_2$ WT накапливал Cu преимущественно на L1, а мутантный штамм - на L4. При добавлении в среду наночастиц серебра (НЧС) Ag наиболее интенсивно накапливалось на стадии L1, причем у cua-1^{H828Q} его содержание было выше, чем у WT. НЧС изменяли содержание эндогенной Cu в зависимости от стадии, так у WT оно снижалось на L3 и Yad и повышалось на L4, а у cua-1^{H828Q} увеличивалось у молодых взрослых животных. В работе обсуждается нарушение онтогенетической регуляции импорта/экскреции меди и серебра, а также существование альтернативного пути их поступления в организм у нематод, несущих замену H828Q в белке CUA-1, ортологе ATP7B человека, в которой мутация гомологичная замене H828Q ответственна за развитие болезни Вильсона (БВ).*

Ключевые слова: *Caenorhabditis elegans, гомеостаз меди, медь-ассоциированные заболевания, CUA-1, наночастицы серебра, онтогенез.*

Введение. Способность меди переходить между степенями окисления Cu(I) и Cu(II) обеспечивает каталитическую активность цитохром-с-оксидазы, супероксиддисмутазы, церулоплазмина и других купроферментов. Помимо каталитической функции, медь участвует в регуляции клеточной сигнализации, пролиферации, дифференцировки, энергетического и липидного обмена. Однако избыток меди способствует окислительному повреждению макромолекул, нарушению работы митохондрий и запуску регулируемых форм клеточной гибели [1]. Поэтому концентрация и внутриклеточное распределение меди поддерживаются системой, включающей высоко специфических мембранных импортеров, цитозольных шаперонов, экспорта АТФ-зависимых насосов, а также белков и пептидов депонирующих Cu(I)/Cu(II) и обеспечивающих их окислительно-восстановительный цикл. У млекопитающих основной путь транспорта включает импортер CTR1, шапероны ATOX1, CCS и COX17, медь-транспортные АТФазы ATP7A и ATP7B, а также секреторные купроферменты. ATP7B обеспечивает включение меди в церулоплазмин и выведение избытка металла с желчью. Генетические нарушения ATP7B приводят к развитию БВ, наследственному заболеванию, при котором медь накапливается прежде всего в печени и головном мозге [2]. Один из наиболее распростра-

ненных вариантов мутации, вызывающей развитие БВ - H1069Q - нарушает созревание, внутриклеточное перемещение и функциональную активность ATP7B. Клиническая вариативность болезни Вильсона показывает, что последствия дефекта зависят не только от общего содержания меди, но также от возраста, ткани, клеточного компартмента и состояния адаптационных систем. Системы, контролирующие безопасный круговорот меди, перестраиваются в ходе развития. Так, у млекопитающих эмбриональный тип метаболизма меди, характеризующийся низким уровнем экспрессии ATP7B и церулоплазмина и фенотипически соответствующий БВ, сменяется взрослым типом метаболизма меди, где наблюдается высокая активность гена церулоплазмина и индукция экспрессии гена *ATP7B* [3]. Короткий жизненный цикл *C. elegans* позволяет исследовать динамику изменения метаболизма меди в течение онтогенеза на стадиях развития в синхронизированных популяциях. У *C. elegans* медь-транспортная АТФаза CUA-1 гомологична ATP7A/ATP7B. Штамм *cua-1*^{H828Q} несет замену, соответствующую H1069Q в белке человека, и имеет ряд признаков болезни Вильсона, такие как повышенную чувствительность к избытку меди, задержку развития, нарушение двигательной активности [4]. Для анализа путей Cu(I) дополнительным инструментом могут служить ионы Ag(I), диссоциирующие с поверхности НЧС в биологической среде и являющимися изоэлектронными аналогами Cu(I). Они связываются с рядом медных шаперонов и транспортных белков и могут включаться в активные центры секреторных, но не цитозольных и митохондриальных купроэнзимов [5]. Сопоставление Cu и Ag на последовательных стадиях развития позволяет выявить возрастные изменения в метаболизме меди и выбрать наиболее информативные периоды для скрининга хелаторов меди.

Цель. Провести сравнительный анализ накопления меди и серебра на разных стадиях развития (L1, L2, L3, L4 и Yad) у *C. elegans* дикого типа WT и штамма *cua-1*^{H828Q} в физиологических условиях, при воздействии избытка $CuCl_2$ и НЧС.

Материалы и методы. В работе использовали нематоду *C. elegans* штамма дикого типа N2 (WT) и мутантного типа (*cua-1*^{H828Q}). Синхронизированные популяции культивировали в жидкой среде с *E. coli* OP50 в физиологичесикх условиях, при добавлении 50 мкМ $CuCl_2$ или 0,25 мг/л НЧС. Животных отбирали на стадиях L1, L2, L3, L4 и Yad. Для удаления бактерий осадок нематод несколько раз промывали буфером M9. Осадок переносили в предварительно взвешенные пробирки, центрифугировали при 7000g в течение 7 минут и удаляли надоосадочную жидкость, после этого высушивали при 65 °C до постоянной массы. Полученные образцы растворяли в концентрированной особо чистой HNO_3. Концентрации Cu и Ag определяли методом атомно-абсорбционной спектрометрии. Значения выражали в мкг/г сухой массы тела. Для каждого металла и условия применяли двухфакторный дисперсионный анализ с поправкой Шидака. Уровень значимости принимали равным p-value < 0,05.

Результаты и обсуждение. В физиологических условиях содержание меди у обоих штаммов имело выраженную зависимость от стадии развития, однако положение максимумов различалось. У WT концентрация Cu возрастала от 1,279 ± 0,102 мкг/г на L1 до 44,073 ± 9,610 мкг/г на L3, снижалась на L4 до 4,386 ± 0,697 мкг/г и вновь достигала 71,376 ± 1,579 мкг/г у молодых взрослых животных (рисунок 1А). Такие изменения в содержании меди в течение развития указывают на две стадии повышенной потребности или удержания меди в середине личиночного развития и после перехода к репродуктивному состоянию. Эти периоды могут быть связаны с линькой, перестройкой дыхательного

метаболизма, формирование кутикулы, половой системы, созреванием зигот и изменением экспрессии купроэнзимов. У *cua-1*^{H828Q} пики накопления меди, по сравнению с WT, смещены на более ранние этапы развития, так содержание Cu повышалось уже на стадии L2 до 27,940 ± 6,153 мкг/г от 0,128 ± 0,050 мкг/г на L1 стадии, оставалось повышенным на L3 и достигало 41,646 ± 4,687 мкг/г на L4, после чего снижалось до 4,444 ± 1,429 мкг/г у молодых взрослых животных. Внутри стадий мутантный штамм содержал больше Cu на L2 и L4, но меньше на L3 и Yad, в то же время абсолютные значения содержания меди были выше у особей *cua-1*^{H828Q} линии. Следовательно, мутация *cua-1*^{H828Q} вызывает смещение накопления меди в течение жизненного цикла и ассоциирована с повышенной способностью аккумулировать медь. Особенно показательно противоположное соотношение на соседних стадиях L3 и L4, которое может отражать нарушение своевременной экскреции или перераспределения меди при линьке и переходе к следующей стадии.

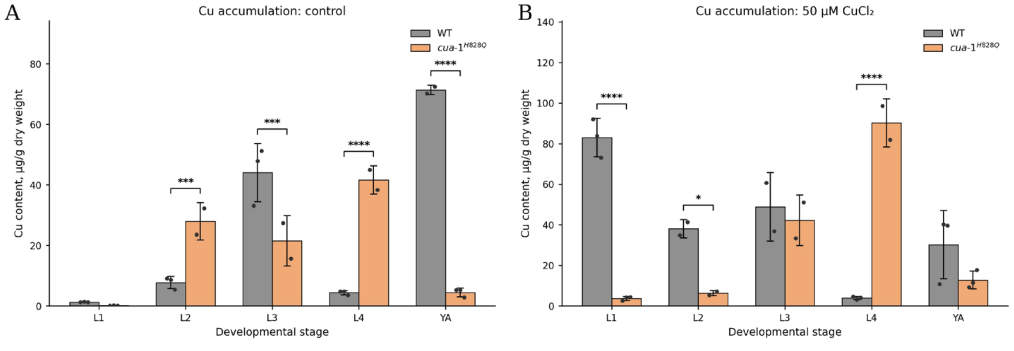


Рис.1.
Содержание меди у *C. elegans* WT и *cua-1*^{H828Q} на разных стадиях жизненного цикла в физиологических условиях (А) и при добавлении 50 мкмоль/л $CuCl_2$ (В). Двухфакторный анализ ANOVA, с поправкой Шидака: *p < 0,05; ***p < 0,001; ****p < 0,0001

Добавление 50 мкМ $CuCl_2$ у обеих линий нематод изменяло профиль содержания меди в течение развития (рисунок 1В). У WT максимальная концентрация меди выявлена уже на L1 - 82,989 ± 9,510 мкг/г, что примерно в 65 раз превышало её концентрацию на этой стадии у нематод, культивируемых в физиологических условиях. Затем содержание Cu снижалось до 38,057 ± 4,525 мкг/г на L2, составляло 48,796 ± 16,874 мкг/г на L3 и достигало минимума 3,911 ± 0,769 мкг/г на L4. У молодых взрослых особей оно повышалось до 30,201 ± 16,839 мкг/г, но оставалось ниже соответствующего физиологического значения. Пик поглощения меди на стадии L1 у нематод WT, позволяет думать, что у недавно вышедших из яйца личинок отсутствуют механизмы, контролирующие поступление меди. У WT они включаются на следующих этапах развития. У *cua-1*^{H828Q} на стадиях L1 и L2 содержание Cu составляло только 3,684 ± 0,970 и 6,257 ± 1,258 мкг/г, соответственно. Накопление становилось выраженным на L3 и достигало максимума

на L4 - 90,297 ± 11,837 мкг/г, после чего снижалось у молодых взрослых животных до 12,790 ± 4,405 мкг/г. Возможно мутация H828Q нарушает согласование поступления, внутриклеточного транспорта и экскреции меди. Задержанное накопление на L4 может быть функционально значимым, поскольку эта стадия предшествует переходу к взрослому животному и сопровождается метаболической перестройкой. Серебро при воздействии НЧС наиболее интенсивно накапливалось на стадии L1 у обоих штаммов (рисунок 2А). У WT содержание Ag составляло 1450,591 ± 604,705 мкг/г, а у *cua-1*^{H828Q} - 2989,464 ± 709,885 мкг/г. На L2-L4 и Yad концентрация снижалась в несколько раз. Следовательно, ранняя личиночная стадия является наиболее чувствительной для поступления Ag(I), а H828Q усиливает его удержание именно в этот период.

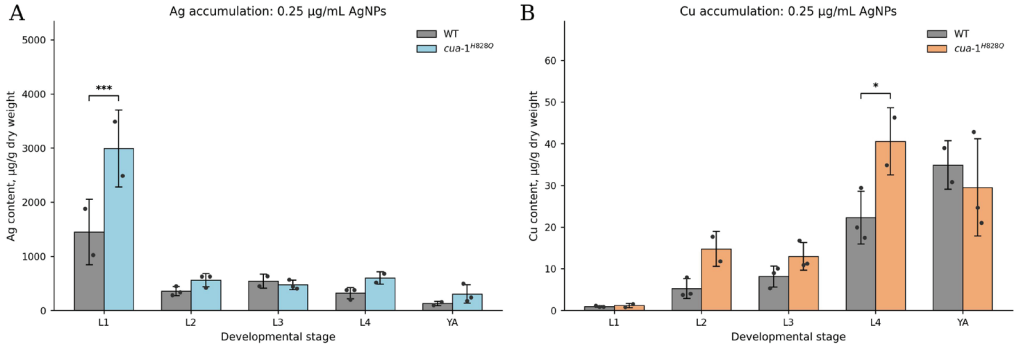


Рис.2.
Накопление серебра (А) и содержание эндогенной меди (В) у *C. elegans* WT и *cua-1*^{H828Q} при воздействии 0,25 мг/л AgNPs. Двухфакторный анализ ANOVA, с поправкой Шидака: *p < 0,05; ***p < 0,001

Чтобы оценить конкуренцию Ag(I) с эндогенной Cu, у обработанных НЧС животных измерили содержание меди (рисунок 2В). В обеих популяциях концентрация Cu постепенно возрастала от L1 к поздним стадиям, но у *cua-1*^{H828Q} на L4 она была выше, чем у WT. Сравнение штаммов, обработанных НЧС, не показывает, вытесняет ли серебро медь, однако при сравнении с физиологическим контролем для каждого генотипа выявляется способность серебра конкурировать за поглощение с медью (рисунок 3). На L1 и L2 значимых изменений не выявлено. На L3 концентрация снижалась с 44,073 ± 9,610 до 8,109 ± 2,485 мкг/г, а у Yad - с 71,376 ± 1,579 до 34,885 ± 5,809 мкг/г. Напротив, на L4 она увеличивалась с 4,386 ± 0,697 до 22,268 ± 6,342 мкг/г. Это может указывать, что Ag(I) не просто уменьшает общее количество меди, а меняет его онтогенез-зависимое распределение. У *cua-1*^{H828Q} изменения были менее согласованными (рисунок 3В). На L1-L4 содержание Cu в контроле и после НЧС статистически не различалось, несмотря на отдельные тенденции. Достоверное увеличение обнаружено только у Yad.

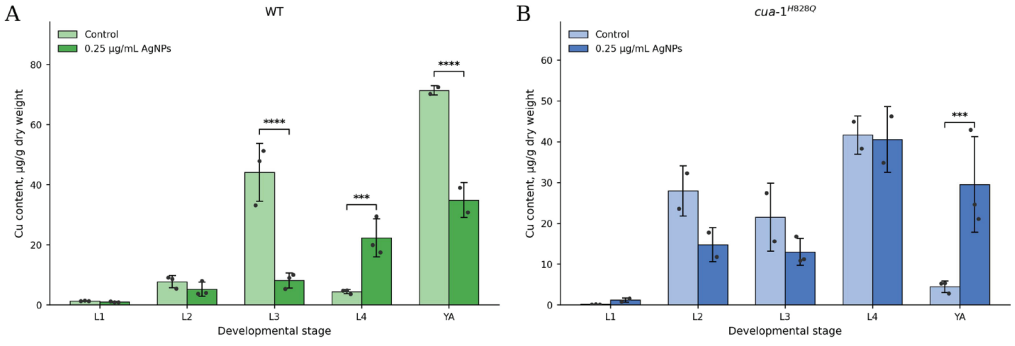


Рис.3.
Влияние 0,25 мг/л AgNPs на содержание меди у *C. elegans* WT (A) и *cua-1*^{H828Q} (B) в разные периоды развития. Светлые столбцы - контроль, темные - НЧС; данные представлены как среднее ± SD. Двухфакторный анализ ANOVA, с поправкой Шидака: ***p < 0,001; ****p < 0,0001

Полученные профили содержания меди у нематод обеих линий, обработанных НЧС, показывают изменения меди в зависимости от стадии развития нематоды. Мутация H828Q может влиять на накопление меди в физиологических условиях и при $CuCl_2$, перенося основной пик меди с L1 на L4. При добавлении НЧС на стадии L1 нематода *cua-1*^{H828Q} накапливает больше Ag. Это может быть связано с нарушением экспорта через CUA-1 или существованием альтернативных путей поступления Ag(I). Результаты позволяют выделить L1, L4 и Yad как наиболее информативные стадии для дальнейшего анализа функции CUA-1.

Содержание меди у *C. elegans* регулируется стадией развития. Замена H828Q в CUA-1 изменяет физиологический профиль Cu, вызывает отсроченное накопление при избытке $CuCl_2$ и повышает содержание Ag на L1. Таким образом, мутация *cua-1*^{H828Q} влияет на круговорот меди и может применяться для изучения социально-значимых медь-ассоциированных заболеваний.

Выводы.

1. Мутация H828Q влияет на онтогенез-опосредованное содержание меди в течение жизненного цикла.

2. На ранней личиночной стадии у нематод WT поглощение экзогенной меди не регулируется.

3. Пути поступления меди и серебра у нематод WT и линии *cua-1*^{H828Q} не совпадают полностью.

Исследование выполнено в рамках государственного задания FGWG-2025-0021

Список литературы:

1. Lutsenko S., Roy S., Tsvetkov P. Mammalian copper homeostasis: physiological roles and molecular mechanisms // Physiological Reviews. 2025. Vol. 105, No. 1. P. 441-491. DOI: 10.1152/physrev.00011.2024.

2. *Członkowska A., Litwin T., Dusek P. et al. Wilson disease // Nature Reviews Disease Primers. 2018. Vol. 4, No. 1. Art. 21. DOI: 10.1038/s41572-018-0018-3.*
3. *Zatulovskaia Y.A., Ilyechova E.Y., Puchkova L.V. The features of copper metabolism in the rat liver during development // PLoS ONE. 2015. Vol. 10, No. 10. Art. e0140797. DOI: 10.1371/journal.pone.0140797.*
4. *Catalano F., O'Brien T.J., Mekhova A.A. et al. A new Caenorhabditis elegans model to study copper toxicity in Wilson disease // Traffic. 2024. Vol. 25, No. 1. Art. e12920. DOI: 10.1111/tra.12920.*
5. *Puchkova L.V. et al. Silver ions as a tool for understanding different aspects of copper metabolism // Nutrients. 2019. Vol. 11, No. 6. Art. 1364. DOI: 10.3390/nu11061364.*

✶ ✶ ✶

РОЛЬ ESKAPE-ГРУППЫ В РАЗВИТИИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ МЕНИНГИТОВ У ГОСПИТАЛИЗИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ: СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ И ДАННЫЕ СОБСТВЕННОГО КЛИНИЧЕСКОГО НАБЛЮДЕНИЯ

Блюмкин Д.Б., Церцеил В.В.
Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Аннотация. *В статье представлен анализ роли патогенов ESKAPE-группы (Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa, Enterobacter spp.) в развитии бактериальных менингитов у госпитализированных нейрохирургических пациентов. На основе обзора современных литературных данных и результатов собственного молекулярно-генетического исследования 50 образцов спинномозговой жидкости выявлены различия в этиологической структуре нозокомиальных менингитов. С помощью ПЦР в реальном времени установлено, что Staphylococcus aureus (56 %) и Streptococcus spp. (30 %) являются доминирующими возбудителями, тогда как Klebsiella pneumoniae (10 %) и Acinetobacter baumannii (4 %) встречаются реже, но представляют наибольшую угрозу в связи с множественной лекарственной устойчивостью. Показано, что общий уровень выявляемости патогенов (100 %) отражает высокую диагностическую эффективность молекулярных методов, однако наличие резистентных штаммов грамотрицательных бактерий указывает на необходимость усиления эпидемиологического мониторинга и разработки новых подходов к антибиотикотерапии, особенно в нейрохирургических стационарах, выступающих потенциальными «горячими точками» распространения внутрибольничных инфекций.*

Ключевые слова: *бактериальный менингит; ESKAPE-патогены; нозокомиальная инфекция; ПЦР в реальном времени; антимикробная резистентность; спинномозговая жидкость; эпидемиологический мониторинг.*

Введение. Бактериальные менингиты у госпитализированных пациентов, особенно в отделениях нейрохирургии и реанимации, представляют собой критическую медицинскую проблему. Развитие инфекции в этой когорте больных чаще всего является вторичным и связано с нарушением целостности анатомических барьеров вследствие черепно-мозговой травмы, нейрохирургических вмешательств (краниотомия, установка наружных вентрикулярных дренажей (EVD), шунтирующие операции) или внутрижелудочковых кровоизлияний [1, 2].

Этиологический спектр нозокомиального менингита существенно отличается от внебольничного. Если в обществе основными возбудителями остаются Streptococcus pneumoniae и Neisseria meningitidis [3], то в стационарных условиях доминирующую роль начинают играть внутрибольничные штаммы, характеризующиеся высокой вирулентностью и, что самое важное, множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) [4]. Именно эти характеристики делают патогены ESKAPE-группы центральной фигурой в дискуссии о нозокомиальных менингитах.

Актуальность этой темы сложно переоценить. МЛУ-штаммы Acinetobacter baumannii и Klebsiella pneumoniae могут вызывать вспышки внутрибольничных инфекций с летальностью, достигающей 40 % и выше [5, 6]. Сложность диагностики, обусловленная частым применением антибиотиков до забора СМЖ, и ограниченная проницаемость многих антибактериальных препаратов через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) делают лечение этих инфекций крайне затруднительным [2].

Целью данной работы является анализ роли ESKAPE-патогенов в развитии бактериальных менингитов у госпитализированных нейрохирургических пациентов, основанный на современных литературных данных и результатах собственного микробиологического мониторинга.

Материалы и методы. Для оценки реальной этиологической структуры нозокомиального менингита в условиях нейрохирургического стационара был проведен ретроспективный анализ лабораторных данных.

В исследование были включены 50 пациентов (32 мужчины и 18 женщин, средний возраст 32±12 лет), проходивших стационарное лечение на кафедре нейрохирургии Военно-медицинской академии в период с 2024-2025 гг. Критериями включения являлось клиническое подозрение на нозокомиальный менингит/вентрикулит, подтвержденное наличием соответствующих изменений в спинномозговой жидкости (плеоцитоз, повышение белка, снижение глюкозы).

Материалом для исследования служили образцы ликвора, полученные при проведении люмбальной пункции или из наружных желудочковых дренажей. Забор материала проводился строго по стандартным протоколам асептики.

Выделение ДНК. Экстракцию нуклеиновых кислот из образцов спинномозговой жидкости осуществляли с использованием коммерческих наборов реагентов «ДНК-сорб-Б» (производитель: [указать производителя]). Процедура проводилась в соответствии с рекомендациями производителя и включала этапы лизиса клеток, сорбции ДНК на магнитных частицах или силикагелевой мембране, отмывки и элюции чистого препарата ДНК.

Амплификация и детекция. Для идентификации патогенов использовали метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. Амплификацию и детекцию флуоресцентного сигнала проводили на приборе CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad Laboratories, США). Для мультиплексного выявления ДНК микроорганизмов ESKAPE-группы применяли коммерческий набор реагентов «ESKAPE V» (производитель: ООО «Литех», Россия). Данный набор позволяет в одной реакции обнаруживать маркерные последовательности ДНК следующих патогенов: Enterococcus faecium (vanA/B), Staphylococcus aureus (mecA, femA), Klebsiella pneumoniae (blaKPC, blaNDM, blaOXA-48-like), Acinetobacter baumannii (blaOXA-23-like, blaOXA-40-like, blaOXA-58-like), Pseudomonas aeruginosa, и Enterobacter spp., а также включает внутренний контрольный образец (ВКО) для оценки качества экстракции и наличия ингибиторов ПЦР.

Обработка и интерпретация результатов ПЦР проводились согласно инструкции производителя с использованием программного обеспечения прибора CFX96. Результат считался положительным при наличии характерных кривых флуоресценции, соответствующих специфическим зондам для каждого детектируемого микроорганизма.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного обеспечения [указать, например, IBM SPSS Statistics или GraphPad Prism]. Долю положительных образцов рассчитывали с 95 % доверительным интервалом (Clopper-Pearson).

Результаты и обсуждение. В ходе исследования было проанализировано 50 образцов спинномозговой жидкости. Во всех образцах выделенная ДНК позволила амплифицировать внутренний контрольный образец (подтверждение корректной экстракции и отсутствия ингибиторов). ДНК патогенов ESKAPE-группы была обнаружена в 50 образцах (общая частота выявляемости 100 %). Распределение выявленных микроорганизмов представлено в таблице 1.

Таблица 1.

Распределение выявленных патогенов в образцах спинномозговой жидкости пациентов нейрохирургического стационара

Возбудитель	**Число положительных образцов (n=50)**	**Доля, % (95 % ДИ)**
Staphylococcus aureus	28	56,0 % (41,2 – 70,0)
Streptococcus spp.	15	30,0 % (17,8 – 44,5)
Klebsiella pneumoniae	5	10,0 % (3,3 – 21,8)
Acinetobacter baumannii	2	4,0 % (0,5 – 13,7)
Итого	**50**	**100 %**

При сравнении частот выявления грамположительных (S. aureus, Streptococcus spp.) и грамотрицательных (K. pneumoniae, A. baumannii) микроорганизмов установлено доминирование первых (86,0 % против 14,0 %). Однако, как видно из таблицы 1, наличие карбапенем-резистентных штаммов K. pneumoniae и A. baumannii, даже в единичных случаях (10 % и 4 % соответственно), представляет собой серьезную клиническую проблему.

Полученные нами данные демонстрируют сложную и вариабельную этиологическую картину нозокомиального менингита. Хотя в нашем исследовании грамположительные кокки (S. aureus и Streptococcus spp.) преобладали, нельзя игнорировать присутствие грамотрицательных ESKAPE-патогенов (K. pneumoniae и A. baumannii), что полностью согласуется с глобальной тенденцией, описанной в литературе [4, 6].

Лидирующая роль S. aureus (включая MRSA) является классической для инфекций, связанных с имплантатами и хирургическими вмешательствами [1]. Способность стафилококков образовывать биопленки на нейрохирургических устройствах делает их особенно опасными. Для лечения таких инфекций часто требуются не только системные антибиотики (ванкомицин, линезолид), но и удаление инфицированного имплантата, что подтверждает тезис о том, что для эрадикации биопленки одних антибиотиков недостаточно [6, 10].

Обнаружение K. pneumoniae и A. baumannii, несмотря на их малую долю (14 % в сумме), является «тревожным сигналом». Многочисленные исследования, включая масштабный обзор Karvouniaris et al., отмечают устойчивый рост доли грамотрицательных инфекций при нозокомиальном менингите [4, 6]. Эти патогены ассоциированы с

худшими исходами, более длительной госпитализацией и высокой летальностью [5, 6]. Лечение таких инфекций представляет собой серьезный вызов. Терапевтическая неудача часто связана с неадекватной эмпирической терапией, которая не покрывает МЛУ-штаммы, и плохой пенетрацией препаратов через ГЭБ. Даже при применении высоких доз системных антибиотиков, их концентрация в СМЖ может быть субтерапевтической [6]. Это делает изучение и применение новых препаратов с высокой способностью проникать через ГЭБ, таких как бигуанид-функционализированные полимеры, описанные в недавнем исследовании Jiang et al. [11], крайне актуальным.

Использование ПЦР в реальном времени для диагностики менингитов имеет ключевое преимущество. Чувствительность метода позволяет выявлять ДНК патогенов даже после начала антибиотикотерапии, когда традиционные посевы стерильны [4, 12]. Это принципиально меняет подход к ведению пациентов, позволяя проводить этиотропную терапию. Однако, у метода есть ограничения. Во-первых, ПЦР «видит» ДНК как живых, так и погибших микроорганизмов, что может приводить к гипердиагностике. Во-вторых, молекулярный метод не дает информации о чувствительности бактерий к антибиотикам, что является критическим для выбора препарата. Следовательно, стандартом остается комплексное использование ПЦР для быстрого скрининга и классических культуральных методов для определения антибиотикограммы [6].

Выводы. По результатам проведенного молекулярно-генетического исследования 50 образцов спинномозговой жидкости пациентов нейрохирургического стационара было установлено, что Staphylococcus aureus (56 %) и Streptococcus spp. (30 %) являются доминирующими возбудителями нозокомиального менингита. Вместе с тем, выявление Klebsiella pneumoniae (10 %) и Acinetobacter baumannii (4 %) подтверждает циркуляцию опасных МЛУ-штаммов в стационаре. Полученные данные согласуются с литературными сведениями о росте значимости грамотрицательных ESKAPE-патогенов в этиологии внутрибольничных инфекций ЦНС [4, 6].

Отсутствие статистически значимых различий в частоте выявления отдельных возбудителей, вероятно, связано с относительно небольшой выборкой (n=50). При увеличении объема выборки до 150-200 образцов можно было бы ожидать более точной оценки распространенности резистентных штаммов. Несмотря на это, применение метода ПЦР в реальном времени для анализа СМЖ демонстрирует высокую эффективность современного эпидемиологического надзора. Молекулярно-генетическая диагностика позволяет не просто констатировать наличие возбудителя, но и в реальном времени отслеживать циркуляцию патогенов в стационаре, выявлять очаги инфекции на ранней стадии и контролировать изменение эпидемиологической ситуации на конкретных отделениях. Это дает клиницистам критически важное время для выбора адекватной эмпирической терапии и проведения превентивных противоэпидемических мероприятий.

Список литературы:

1. *De Oliveira, D. M. P., Forde, B. M., Kidd, T. J., Harris, P. N. A., Schembri, M. A., Beatson, S. A., Paterson, D. L., & Walker, M. J. (2020). Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. Clinical Microbiology Reviews, 33(3), e00181-19.*

2. *Jiang, W., Zhou, M., Chen, K., Xiao, X., Shi, J., Zhang, H., Xie, J., Chen, S., Chen, M., Cong, Z., Liu, L., Wu, Y., & Liu, R. (2025). Biguanide-functionalized peptide mimics effectively combat drug-resistant ESKAPE pathogens and meningitis. Nature Communications, 16, 67044.*
3. *Karvouniaris, M., Brotis, A., Tsiakos, K., Palli, E., & Koulenti, D. (2022). Current Perspectives on the Diagnosis and Management of Healthcare-Associated Ventriculitis and Meningitis. Infection and Drug Resistance, 15, 697-721.*
4. *Основы общей эпидемиологии. Эпидемиологическая диагностика / В. Н. Емельянов, А. А. Кузин, В. А. Вирко., Зобов А.Е., Овчинников Д.В., Карпущенко В.Г., Рыжиков М.А. – Санкт Петербург: Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, 2025. – 94 с. – EDN KKNZYW.*
5. *van de Beek, D., Brouwer, M., Hasbun, R., Koedel, U., Whitney, C. G., & Wijdicks, E. (2016). Community-acquired bacterial meningitis. Nature Reviews Disease Primers, 2, 16074.*
6. *Valdoleiros, S. R., Torrao, C., Freitas, L. S., Mano, D., Goncalves, C., & Teixeira, C. (2022). Nosocomial meningitis in intensive care: a 10-year retrospective study and literature review. Acute and Critical Care, 37(1), 61-70.*
7. *Denissen, J., Reyneke, B., Waso-Reyneke, M., Havenga, B., Barnard, T., Khan, S., & Khan, W. (2022). Prevalence of ESKAPE pathogens in the environment: Antibiotic resistance status, community-acquired infection and risk to human health. International Journal of Hygiene and Environmental Health, 244, 114006.*
8. *Bijlsma, M. W., Brouwer, M. C., Kasanmoentalib, E. S., Kloek, A. T., Lucas, M. J., Tanck, M. W., ... & van de Beek, D. (2016). Community-acquired bacterial meningitis in adults in the Netherlands, 2006–14: a prospective cohort study. The Lancet Infectious Diseases, 16(3), 339-347.*
9. *Partridge, S. R., Kwong, S. M., Firth, N., & Jensen, S. O. (2018). Mobile Genetic Elements Associated with Antimicrobial Resistance. Clinical Microbiology Reviews, 31(4), e00088-17.*
10. *Эпидемиологическая диагностика. Эпидемиологическое обследование очагов / В. Н. Емельянов, А. А. Кузин, В. А. Вирко, Зобов А.Е., Овчинников Д.В., Карпущенко В.Г., Рыжиков М.А.– Санкт Петербург : Военно- медицинская академия имени С.М. Кирова, 2025. – 96 с. – EDN JFJXYW.*
11. *Tunkel, A. R., Hasbun, R., Bhimraj, A., Byers, K., Kaplan, S. L., Scheld, W. M., ... & Bleck, T. P. (2017). 2017 Infectious Diseases Society of America's Clinical Practice Guidelines for Healthcare-Associated Ventriculitis and Meningitis. Clinical Infectious Diseases, 64(6), e34-e65.*
12. *Rice, L. B. (2008). Federal Funding for the Study of Antimicrobial Resistance in Nosocomial Pathogens: No ESKAPE. The Journal of Infectious Diseases, 197(8), 1079-1081.*

* * *

АНАЛИЗ СПЕКТРА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ И ДИНАМИКИ ИХ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ У ПАЦИЕНТОВ МНОГОПРОФИЛЬНОГО МЕДИЦИНСКОГО СТАЦИОНАРА

Бурякова Л.В., Суборова Т.Н., Сидельникова О.П., Крылова Т.Г., Марухов А.В.

Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Аннотация. *Проведен анализ частоты встречаемости, локализации и антибиотикорезистентности возбудителей инфекционных осложнений в физиологических жидкостях пациентов, находившихся на стационарном лечении в многопрофильном медицинском стационаре МО РФ. Исследования показали, что наиболее проблемной группой патогенов являются грамотрицательные бактерии. Преимущественное присутствие грамположительных бактерий отмечено только среди изолятов, выделенных из крови. Ведущие возбудители инфекционных осложнений среди грамотрицательных бактерий (Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii и Pseudomonas aeruginosa) характеризовались высокой полирезистентностью к антимикробным препаратам разных классов, включая группу резерва. Отмечалось уменьшение активности препарата тигециклин в отношении штаммов K. pneumoniae и A. baumannii.*

Ключевые слова: *инфекционные осложнения, антимикробная терапия, антибиотикорезистентность микроорганизмов, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa.*

Введение. Рост устойчивости к антибиотикам стал значительной угрозой общественному здравоохранению, резко увеличив как заболеваемость, так и смертность пациентов. По результатам системного анализа ВОЗ, опубликованного в 2022 году, в 2019 году в мире по разным оценкам от 3,62 до 6,57 миллионов смертей были ассоциированы с бактериальными инфекциями, вызванными проблемными резистентными штаммами возбудителей. За последнее десятилетие отмечается неуклонный рост штаммов микроорганизмов с множественной и экстремальной устойчивостью к антибиотикам, что становится серьезной проблемой для системы общественного здравоохранения во всем мире [1-5]. В России ежегодно фиксируется до 2,3 млн случаев инфекционных осложнений, связанных с возбудителями, устойчивыми к антимикробным препаратам (АМП). С текущей ситуацией по структуре возбудителей бактериальных инфекций и их устойчивости можно ознакомиться на открытой онлайн-платформе анализа данных резистентности к антимикробным препаратам в России AMRmap [6-8].

В настоящее время наибольшую угрозу представляют штаммы *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa*, которые относятся к наиболее распространенным и проблемным возбудителям инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. Так, при исследовании этиологической структуры и антибиотикорезистентности возбудителей инфекционных осложнений у раненых на этапе оказания специализированной медицинской помощи было установлено, что в спектре выделенных микроорганизмов преобладали полирезистентные возбудители

K. pneumoniae, P. aeruginosa и *A. baumannii*, удельный вес которых варьировал в зависимости от вида клинического материала. Данные бактерии преобладали в спектре микроорганизмов, выделенных из ран, а также отделяемого дыхательных и мочевыводящих путей. Полирезистентные клинические изоляты *A. baumannii* были чувствительны только к тигециклину и полимиксину, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* – только к полимиксину [9]. Важной современной проблемой антибиотикотерапии инфекций, вызываемых этими микроорганизмами, является значительное увеличение устойчивости возбудителей к карбапенемам, связанное с продукцией приобретенных карбапенемаз. Лечение пациентов с инфекционными осложнениями, вызванными такими микробами, оказывается малоэффективным и сопряжено с определенными трудностями.

Цель. Для выявления возможных изменений этиологического спектра и антибиотикорезистентности возбудителей инфекционных осложнений провести анализ частоты встречаемости и локализации патогенов в физиологических жидкостях пациентов, находившихся на стационарном лечении в многопрофильном медицинском стационаре МО РФ в 2022 - 2024 гг.

Материалы и методы. Бактериологические исследования проб клинического материала (крови, мокроты, аспирата трахеобронхиального дерева, мочи, раневого отделяемого, ликвора, плевральной жидкости, экссудата брюшной полости, подключичных катетеров) проводили в соответствии с современными требованиями и методическими рекомендациями по микробиологической диагностике в лечебно-диагностических учреждениях [10]. Они включали забор проб в условиях, исключающих контаминацию, доставку проб в микробиологическую лабораторию, проведение посевов на питательные и дифференциально-диагностические среды, идентификацию и исследование чувствительности возбудителей к антибиотикам [11]. В работе использованы учетно-отчетные документы бактериологической лаборатории.

Результаты и обсуждение. В 2022 году было исследовано 3845 клинических изолятов. Установлено, что в спектре выделенных микроорганизмов преобладали три полирезистентных возбудителя – *K. pneumoniae, P. aeruginosa* и *A. baumannii*, удельный вес которых варьировал в зависимости от вида клинического материала. Данные бактерии преобладали среди микроорганизмов, выделенных из ран (64,7 %) и мокроты (69,2 %). Среди возбудителей инфекции кровотока лидировали *коагулазо*отрицательные стафилококки (34,5 %) и *K. pneumoniae* (27,8 %). При этом доля метициллинрезистентных *Staphylococcus* spp. составила 80 %. В среднем в биологическом материале пациента было выделено одновременно или последовательно 3 штамма возбудителей инфекций. Данный факт можно объяснить участием в развитии инфекционного осложнения ассоциаций бактерий, а также длительным временем лечения, в течение которого могла происходить смена микрофлоры.

Штаммы *K. pneumoniae* были устойчивы к цефалоспоринам 3 - 4-го поколений, ципрофлоксацину, фосфомицину. 25 - 30 % активность сохраняли аминогликозиды, карбапенемы, триметоприм/сульфометоксазол. Чувствительность к тигециклину превысила 40 % только для штаммов, выделенных из ран и крови. Изоляты сохраняли 90 % чувствительность только к полимиксину. Вне зависимости от источника выделения чувствительность клинических изолятов *Acinetobacter* spp. к ципрофлоксацину не превышала 10 %, а к ампициллину/сульбактаму, цефалоспоринам 3 - 4-го поколений, аминогликозидам, карбапенемам и триметоприму/сульфометоксазолу – 20 - 30 %. Только

тигециклин и полимиксин сохраняли 70 - 90 % активность. Изоляты *P. aeruginosa* были чувствительны только к полимиксину.

Коагулазоотрицательные *Staphylococcus* spp., среди которых преобладали *S. epidermidis* и *S. haemolyticus*, оказались значительно более устойчивыми, чем коагулазоположительные. Так, доля метициллинрезистентных среди них составила 80 %, чувствительными к фторхинолонам были около 20 % изолятов, к гентамицину и клиндамицину − 35 %. Все исследованные штаммы стафилококков были чувствительны к тигециклину, ванкомицину, линезолиду. Изоляты энтерококков, выделенных из крови, также были устойчивыми к фторхинолонам: 17 % из них сохранили чувствительность к препаратам этой группы. Чувствительность к ванкомицину и линезолиду составила 90 %, к тигециклину − 100 %.

Частота грамотрицательного сепсиса нарастает в большинстве крупных многопрофильных медицинских центров мира. Так, из результатов EPIC-II следует, что в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) у пациентов с инфекцией грамотрицательные бактерии высеваются в 62%, а грамположительные – в 47% случаев. Итоги выполненного EPIC-III свидетельствуют, что растет частота сепсиса, особенно в ОРИТ, вызываемого энтеробактериями − продуцентами БЛРС, а также патогенными микроорганизмами, устойчивыми к карбапенемам в связи с продукцией карбапенемаз. Их возросшая клиническая значимость в развитии тяжелых инфекций связана с увеличением продолжительности жизни лиц, перенесших критическое состояние, и неоправданно частым применением в клинической практике АМП широкого спектра действия, в частности, цефалоспоринов 3-го поколения, фторхинолонов и карбапенемов [12]. В итоге по результатам распространённости и устойчивости к АМП, в особенности в ОРИТ, тройку «лидеров» составили представители порядка Enterobacterales, *A. baumannii*, P. *aeruginosa*.

Новым, крайне неблагоприятным явлением стало формирование феноменов множественной и даже панрезистености, когда проявляется устойчивость ко всем доступным для терапии АМП. В связи с этим далее были проанализированы спектр и антибиотикорезистентность микроорганизмов, выделенных у пациентов с диагнозом сепсис-ассоциированное острое поражение почек, которым проводились операции заместительной почечной терапии в период лечения в ОРИТ в 2023 – 2024 годах.

В спектре выделенных микроорганизмов преобладали грамотрицательные возбудители – *K. pneumoniae* (28,6 %), *A. baumannii* (16,6 %), *P. aeruginosa* (12,0 %) и *Proteus mirabilis* (4,2 %), удельный вес которых варьировал в зависимости от вида клинического материала. Среди грамположительных бактерий в 9,2 % определялись *Staphylococcus* ssp., в 6,0 % – *Enterococcus* ssp., и в 5,5 % – *Corynebacterium striatum*. Также в биологических образцах обнаруживались *Serratia marcescens*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*, *E. coli* и *Ralstonia pickettii*. В единичных случаях выявлялись *Serratia odorifera, Trichosporum asahii*, *Burkholderia cepacia, Bacillus cereus*, *Providencia stuartii, Proteus mirabilis* и *Elisabethkingia meningoseptica*. В 9,2 % случаев в развитии септического процесса принимали участие дрожжеподобные грибы рода *Candida.*

Среди возбудителей инфекции кровотока лидировали *K. pneumoniae* (37,9 %) *Staphylococcus* spp. (13,8 %) и *A. baumannii* (10,4 %). Среди микроорганизмов, выделенных из мокроты и аспирата трахеобронхиального дерева, преобладали грамотрицательные *K.pneumoniae* (34,6 %), *A. baumannii* (18,0 %) и грамположительная *Corynebacterium*

striatum (10,3 %). В раневом отделяемом доминировали *K. pneumoniae* (20,6 %), *A. baumannii* (23,3 %) и *P. aeruginosa* (11,0 %).

Штаммы *K. pneumoniae* были устойчивы к цефалоспоринам 3 - 4-го поколений, имипенему, азтреонаму. 90 % изолятов продемострировали устойчивость к меропенему, ампициллин/сульбактаму, ципрофлоксацину. 25 - 35 % активности сохраняли амикацин и пиперациллин/тазобактам. Чувствительность к тигециклину и колистину превышала 60 %, к гентамицину составляла 50 %. Изоляты *A. baumannii также были* устойчивы к цефалоспоринам 3 - 4-го поколений, имипенему, ципрофлоксацину и азтреонаму. Колистин, тигециклин, амикацин, гентамицин, ампициллин/сульбактам сохраняли 75 - 85 % активности. Чувствительность к меропенему и пиперацил/тазобактаму составляла 50 %.

Клинические изоляты *P. aeruginosa показали ч*увствительность к колистину порядка 80 %, к амикацину и пиперациллин/тазобактаму − около 30 %. Все исследованные штаммы *Proteus mirabilis* были устойчивы к колистину, полимиксину и чувсвительны к карбапенемам и пиперациллин/тазобактаму. Таким образом, результаты исследования спектра возбудителей инфекционных осложнений, выделенных у пациентов с диагнозом сепсис-ассоциированное острое поражение почек, которым проводились операции заместительной почечной терапии в период лечения в ОРИТ в 2023 - 2024 гг., также продемонстрировали преобладание полирезистентных грамотрицательных бактерий. Кроме того, необходимо отметить и возросшую роль грамположительных микроорганизмов.

Заключение. Непрерывное и быстрое развитие механизмов бактериальной резистентности, особенно выраженное у грамотрицательных бактерий, ставит проблему поиска эффективных препаратов для борьбы с возбудителями госпитальных инфекций. Адекватность антибактериальной терапии является основополагающим принципом лечения сепсиса. Независимыми факторами, имеющими доказанное влияние на летальность при сепсисе, являются раннее назначение антибактериальных препаратов и их эффективность в отношении патогенного микроорганизма, которая достигается, в том числе, адекватной дозировкой. Поддержание необходимой концентрации антибиотика в очаге септического процесса необходимо для осуществления полной эрадикации возбудителя, при этом увеличение или снижение дозировки увеличивает риск развития токсических эффектов или появления резистентности патогенных микроорганизмов, что ухудшает исходы лечения [13-15]. Проведенное исследование показало, что у пациентов многопрофильного медицинского стационара в целом, а наиболее часто пациентов ОРИТ с диагнозом сепсис-ассоциированное острое поражение почек, которым проводились операции заместительной почечной терапии, проблемной группой патогенов являются грамотрицательные бактерии. С деятельностью этих микроорганизмов связано наибольшее число тяжелых инфекций. Преимущественное присутствие грамположительных бактерий отмечено только среди изолятов, выделенных из крови. Крайне существенно, что ведущие возбудители бактериемии и сепсиса среди грамотрицательных бактерий (*K. pneumoniae, A. baumannii* и *P. aeruginosa*) характеризовались высокой частотой полирезистентности к антибактериальным препаратам разных классов, включая карбапенемы. На фоне выявленной проблемы представляется важным отметить уменьшение активности препарата тигециклин в отношении штаммов *K. pneumoniae и A. baumannii*. При длительном нахождении больных в ОРИТ наблюдалось изменение чувствительности микрооганизмов к гентамицину, ампициллин/сульбактаму, амикацину, колистину.

Выводы.

1. Исследование спектра и чувствительности к антимикробным препаратам микрофлоры пациентов позволило выявить преобладание полирезистентных грамотрицательных бактерий. Установлена ведущая роль *K. pneumoniae* в развитии септических осложнений.

2. У пациентов ОРИТ с диагнозом сепсис-ассоциированное острое поражение почек, которым проводились операции заместительной почечной терапии, проблемной группой патогенов также являются грамотрицательные бактерии. С деятельностью этих микроорганизмов связано наибольшее число тяжелых инфекций. Преимущественное присутствие грамположительных бактерий отмечено только среди изолятов, выделенных из крови.

3. Анализ структуры и частоты развития антибиотикорезистентности бактериальных штаммов при проведении антибактериальной терапии показал высокую вероятность развития антибиотикорезистентности в период лечения пациентов.

Список литературы:

1. *Ahmed, S.K. Antimicrobial resistance: Impacts, challenges, and future prospects/ S.K. Ahmed [et al.] // J. Med. Surg., Public Health. – 2024. – № 2. – Article 100081.*
2. *Jeukens, J. Genomics of antibiotic-resistance prediction in Pseudomonas aeruginosa /J. Jeukens [et al.] // Ann. Ny. Acad. Sci. – 2019 – Vol. 1435, № 1. – P. 5-17.*
3. *Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis // Lancet – 2022 – Vol. 399, № 10325 – P. 629-655. DOI: https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0*
4. *Das, S. The crisis of carbapenemase-mediated carbapenem resistance across the human-animal-environmental interface in India / S. Das // Infectious Diseases Now. – 2023. – Vol. 53, № 1. – P. 104628. DOI: 10.1016/j.idnow.2022.09.023*
5. *Hays, J.P. Extended spectrum- and carbapenemase-based β-lactam resistance in the Arabian Peninsula – a descriptive review of recent years / J.P. Hays [et al.] // Antibiotics (Basel, Switzerland). – 2022. – Vol. 11, № 10. – P. 1354. DOI: 10.3390/ antibiotics11101354*
6. *Яковлев, С.В. Распространенность и клиническое значение нозокомиальных инфекций в лечебных учреждениях России: исследование ЭРГИНИ / С.В. Яковлев [и др.] // Антибиотики и химиотер. – 2016. – Т. 61. – С. 5-6.*
7. *Онлайн-платформа анализа данных резистентности к антимикробным препаратам в России AMRmap − https://amrmap.ru.*
8. *Кузьменков, А.Ю. AMRmap – система мониторинга антибиотикорезистентности в России / А.Ю. Кузьменков [и др.] // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2021. – Т. 23, № 2. – С. 198-204.*
9. *Крюков, Е.В. Характеристика антибиотикорезистентности возбудителей инфекционных осложнений у раненых / Крюков Е.В., [и др.] // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2023. – Т. 25, № 2. С. – 193-202. DOI: https://doi.org/10.17816/brmma207771*
10. *Методические указания по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам (МУК 4.2. 1890 – 04): Методические указания. – М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 75 с.*

11. *МУ 4.2.2039—05 Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории. Сайт Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор) //https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=4750.*
12. *Flaatten, H. Epidemiology of sepsis in Norway in 1999 / H. Flaatten // Crit. Care. – 2004. – Vol. 8. – P. 180-184.*
13. *Heintz, B.H. Antimicrobial dosing concepts and recommendations for critically ill adult patients receiving continuous renal replacement therapy or intermittent hemodialysis / B.H. Heintz, G.R. Matzke, W.E. Dager // Pharmacotherapy. – 2009. – Vol. 29, № 5. – P. 562-577.*
14. *Owen, E.J. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of antimicrobials in critically ill patients / E.J. Owen, G.A. Gibson, S.A. Buckman // Surg. Infect. (Larchmt.) – 2018. – Vol. 19, № 2. – P. 155-162.*
15. *Jang, S.M. Drug dosing considerations in critically ill patients receiving continuous renal replacement therapy / S.M. Jang, S. Infante, A.A. Pour // Pharmacy. – 2020. – Vol. 8, № 1. – 18 p. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7151686/*

* * *

ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПЕПТИДОВ ПРИ ИНФЕКЦИОННЫХ ПАТОЛОГИЯХ: ПЕРСПЕКТИВЫ И ОГРАНИЧЕНИЯ

Виноградова И.А.
Петрозаводский государственный университет,
Петрозаводск

Аннотация. *Рассмотрены перспективы применения биологически активных пептидов в терапии инфекционных заболеваний на фоне нарастающей резистентности. Проанализированы механизмы действия пептидов и преимущества их использования, среди которых низкая вероятность формирования перекрестной устойчивости по сравнению с классическими антибиотиками. Проведено сравнение природных антимикробных пептидов и их синтетических аналогов с акцентом на стабильность, селективность и устойчивость к протеолизу. Освещены современные стратегии повышения биодоступности пептидных препаратов (липосомы, наночастицы, конъюгаты), возможности их применения в локальных лекарственных формах (спреи, мази), ограничения внедрения в клиническую практику (стоимость производства, проблемы стабильности и биодоступности, необходимость масштабных доклинических и клинических исследований). Особое внимание уделено потенциалу пептидной терапии в условиях северных территорий, учтена взаимосвязь эффективности пептидов с элементным статусом, хроноритмом, остоянием микробиоты и адаптационными возможностями организма.*

Ключевые слова: *биологически активные пептиды, элементный статус, дисэлементоз, микробиота, хронофармакология, северные территории.*

Введение. В условиях нарастающей устойчивости патогенных микроорганизмов к традиционным антимикробным средствам поиск альтернативных терапевтических подходов становится одной из ключевых задач современной медицины и фармацевтики [1]. Среди наиболее перспективных направлений – это использование биологически активных пептидов (БАП), сочетающих прямое антимикробное действие с иммуномодулирующими свойствами. Их мультитаргетный механизм снижает вероятность быстрого формирования перекрестной резистентности, что особенно ценно в борьбе с полирезистентными штаммами. С учетом региональных особенностей северных территорий, где на фоне климатических и экологических факторов могут наблюдаться специфические изменения иммунного статуса и элементного баланса, применение пептидных препаратов приобретает дополнительную актуальность. Исследования, проведенные в Петрозаводском государственном университете [2, 3], демонстрируют значимость микроэлементного статуса и адаптационных реакций организма при разработке терапевтических стратегий, в том числе с использованием пептидных биорегуляторов.

Цель исследования. Оценить потенциал применения биологически активных пептидов в терапии инфекционных заболеваний в условиях роста антибиотикорезистентности, с акцентом на возможности их использования в северных территориях.

Материалы и методы. Исследование выполнено в формате систематического обзора с элементами сравнительного и контекстного анализа на основе результатов собственных исследований, выполненных в Петрозаводском государственном универ-

ситете, по элементному составу биологических образцов (волосы, ткани лабораторных животных), коррекции дисэлементоза, биологическим ритмам, адаптационным реакциям организма в условиях северных территорий, применению пептидных биорегуляторов и взаимосвязи микроэлементного статуса с эффективностью биорегуляторных молекул [2, 3, 4]. А также с учетом данных по устойчивости микроорганизмов к антимикробным препаратам согласно региональным сведениям по Республике Карелия, и базы данных антимикробных пептидов.

Результаты и обсуждение. Поскольку биологически активные пептиды реализуют свое действие через несколько ключевых путей, регулируя продукцию цитокинов, усиливая фагоцитарную активность, БАП могут модулировать воспалительный ответ, нарушая целостность клеточной мембраны бактерий, вызывая лизис клетки или блокируя рецепторы на поверхности клетки, препятствовать проникновению патогена [5]. Такое разнообразие механизмов позволяет использовать пептиды не только как самостоятельные терапевтические агенты, но и в составе комбинированных схем, в том числе в сочетании с пробиотиками и микроэлементами. Такое направление активно разрабатывается в исследованиях по коррекции дисэлементоза и модуляции микробиоты в северных регионах [2, 3]. Природные антимикробные пептиды, выделенные из тканей животных, растений и микроорганизмов, имеют ряд ограничений. Они нестабильны в биологических средах; быстро деградируют под действием протеаз и токсичны при высоких концентрациях. Синтетические аналоги позволяют преодолеть эти недостатки за счет модификации аминокислотной последовательности, введения D-аминокислот или неканонических остатков, повышающих устойчивость к протеолизу. В работах, посвященных пептидной биорегуляции [6], подчеркивается важность структурно-функциональных корреляций. Даже незначительные изменения в последовательности могут существенно влиять на селективность и активность пептида. В исследованиях И.А. Виноградовой и соавт. [2, 3] элементного статуса и адаптации в северных условиях показана взаимосвязь микроэлементного баланса с эффективностью биорегуляторных молекул, включая пептиды. Работы по пептидной биорегуляции [7] раскрываюn принципы подбора пептидных комплексов с учетом индивидуальных и региональных особенностей. Одна из главных проблем практического применения пептидов низкая биодоступность при пероральном приеме и быстрая элиминация из системного кровотока. Для решения этой проблемы разрабатываются такие системы доставки, как липосомы. Они обеспечивают защиту пептида от деградации и способствуют его проникновению через биологические барьеры. Наночастицы позволяют целенаправленно доставлять пептид к очагу инфекции, снижая системную токсичность. Еще возможно соединение пептида с молекулами, улучшающими его фармакокинетические свойства (например, с полиэтиленгликолем). Эти системы доставки особенно перспективны для создания локальных форм спреев, мазей, кремов и гелей, которые могут применяться при респираторных и кожных инфекциях. Локальное действие минимизирует системные побочные эффекты и позволяет достичь высокой концентрации препарата непосредственно в зоне поражения. Специфика северных регионов (низкие температуры, дефицит солнечного света, особенности питания и элементного состава среды) обуславливает необходимость адаптации терапии инфекционных заболеваний с применением БАП.

Коррекция дисэлементоза как фоновая терапия может повышать эффективность пептидных препаратов за счет нормализации метаболических и иммунных процессов.

Модуляция микробиоты с помощью пробиотиков и пептидов позволяет не только бороться с инфекцией, но и восстанавливать барьерные функции слизистых оболочек. Учет хронобиологических ритмов может оптимизировать время введения пептидных препаратов для достижения максимального терапевтического эффекта. Исследования дисэлементоза на лабораторных животных (крысы), его коррекция и анализ элементного состава волос [2, 3] подтверждают важность комплексного подхода. Такое сочетание пептидной терапии с коррекцией элементного статуса может усиливать клинический эффект и снижать риск осложнений. Работы по хронофармакологическому контролю [4] доказали, что эффективность и безопасность пептидных препаратов существенно зависят от времени их введения. Учет циркадных ритмов позволяет повысить терапевтический эффект, снизить пиковые концентрации в крови и минимизировать риск побочных явлений за счет синхронизации приема с естественными биологическими ритмами организма. Так, в исследованиях пептидного биорегулятора эпиталамина было показано, что однократное или курсовое введение в 10 часов утра достоверно стимулировало формирование ночного пика мелатонина в пинеальной железе, тогда как введение в другое время суток такого эффекта не давало [10]. Аналогичные данные получены и для других пептидов [11]. Выявлено, что хроночувствительность влияет ка на фармакокинетику, так и на фармакодинамику, что обосновывает разработку персонализированных схем хронотерапии.

Заключение. Несмотря на значительный потенциал, широкое внедрение пептидных препаратов сдерживается рядом факторов, среди которых высокая стоимость производства и сложность масштабирования; необходимость проведения длительных доклинических и клинических исследований; отсутствие стандартизированных методик оценки эффективности и безопасности.

Выводы. Биологически активные пептиды представляют собой многообещающий класс соединений для борьбы с инфекционными заболеваниями, особенно в условиях роста антибиотикорезистентности. Их применение в сочетании с коррекцией микроэлементного статуса, разработкой схем хронотерапии, модуляцией микробиоты и использованием современных систем доставки открывает новые возможности для персонализированной терапии в северных регионах. Исследования БАП должны быть направлены на оптимизацию фармакокинетических свойств пептидов, стандартизацию методов их оценки и проведение клинических испытаний, подтверждающих эффективность и безопасность в реальных условиях.

Список литературы:

1. *World Health Organization. (2025). Global antibiotic resistance surveillance report 2025 [Electronic version]. URL: https://www.who.int/publications/i/item/9789240116337 (Дата обращения: 20.07.2026)*
2. *Луговая Е.А. Степанова Е.М., Виноградова И.А. и др. Оценка и оптимизация элементного статуса организма – перспективы персонализированной медицины . — Москва : Ленанд, 2026. — 200 с.*
3. *Виноградова И.А., Варганова Д.В., Жукова О.В. и др. Профилактика дисэлементоза: экспериментальный подход. — Петрозаводск : Твоя типография, 2024. — 92с.*
4. *Лотош Т.А., Виноградова И.А. Световое загрязнение, параметры биологического возраста и продолжительность жизни. — Петрозаводск : ПетрГУ, 2015. — 65с.*

5. *Zasloff M. Antimicrobial peptides of multicellular organisms // Nature. — 2002. — Vol. 415, № 6870. — P. 389–395.*
6. *Шустов Е.Б., Гасанов М.Т., Капанадзе Г.Д. и др. Пептидная биорегуляция резистентности к экстремальным воздействиям // Биомедицина. — 2018. — № 2. — С. 4–14.*
7. *Архинчеева Н.Ц., Бальхаев И.М. Современное состояние и перспективные направления развития пептидной терапии // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. — 2022. — Т. 25, № 2. — С. 3–6.*
8. *Хавинсон В. Х., Ильницкий А. Н., Прощаев К. И. и др. Локальные формы пептидных препаратов в дерматологии и оториноларингологии // Успехи геронтол. — 2013. — Т. 26, № 4. — С. 623–631.*
9. *Петров В. И. Хронофармакология и хронотерапия // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. — 2012. — Выпуск 4, № 44. — С.3–8.*
10. *Коркушко О.В., Лапин Б.А., Гончарова Н.Д. и др. Нормализующее влияние пептидов эпифиза на суточный ритм мелатонина у старых обезьян и людей пожилого возраста // Успехи геронтол. — 2007. — Т. 20, № 1. — С. 74–85.*
11. *Юнаш В.Д., Виноградова И.А. Влияние светового режима и препаратов эпифиза на физическую работоспособность крыс при старении. — Петрозаводск : ПетрГУ, 2016. — 68с.*

* * *

ВЛИЯНИЕ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ABC-ТРАНСПОРТЕРОВ НА РАЗВИТИЕ ФАРМАКОРЕЗИСТЕНТНОЙ ЭПИЛЕПСИИ

Галанкин Н.А.[1,2], Тадтаева З.Г.[1], Сардарян И.С.[1], Ефет Е.А.[1], Мелашенко Т.В.[3]

[1]Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет,
[2]Институт экспериментальной медицины,
[3]Детская городская больница №22,
Санкт-Петербург

Аннотация. *Целью исследования является изучение влияния генетического варианта rs2032582 G2677T гена ABCB1, кодирующего белок-транспортер Р-гликопротеин из суперсемейства ABC, на развитие фармакорезистентной эпилепсии (ФРЭ) у детей. В обследование были включены 92 ребенка от 0 до 18 лет, получавшие антиэпилептические препараты-субстраты Р-гликопротеина. Основную группу составили 53 пациента с ФРЭ, контрольную - 39 детей с ремиссией приступов. Генотипирование выполняли методом ПЦР в реальном времени. Сравнение частот аллелей и генотипов проводили с применением критерия χ^2, оценку риска - по показателю отношения шансов (ОШ) с 95% доверительным интервалом. Установлено, что минорный аллель T и генотипы G/T и T/T значимо чаще встречались в группе детей с ФРЭ. Носительство аллеля T ассоциировано с более чем двукратным повышение риска развития ФРЭ. Для генотипа T/T отмечена тенденция к увеличению риска ФРЭ. Таким образом, аллель T варианта G2677T гена ABCB1 может являться фармакогенетическим маркером неэффективности противоэпилептической терапии.*

Ключевые слова: *Фармакорезистентная эпилепсия, антиэпилептические препараты, фармакогенетика, однонуклеотидные варианты, Р-гликопротеин, ABCB1.*

Введение. Согласно определению Международной противоэпилептической лиги (ILAE), фармакорезистентная эпилепсия (ФРЭ) - невозможность достичь устойчивой ремиссии приступов после двух попыток подбора схемы лечения адекватно подобранными и хорошо переносимыми антиэпилептическими препаратами (АЭП) в монотерапии либо в комбинации [1]. Сохраняющиеся приступы существенно отягощают течение заболевания, снижают качество жизни пациентов, способствуют инвалидизации, а в детском возрасте могут приводить к остановке развития или утрате психомоторных навыков.

Среди механизмов формирования резистентности, выделяют “гипотезу транспортеров”. Белки-транспортеры суперсемейства ABC экспрессируются в кишечнике, печени, почках, а также в сосудах ГЭБ, где их избыточная активность может обуславливать недостаточное проникновение АЭП к молекулам-мишеням в головном мозге прежде всего в зоне эпилептического очага [2]. Одной из причин сверхэкспрессии транспортных белков являются однонуклеотидные варианты в генах этих белков (англ. Single Nucleotide Polymorphisms, Variants, SNP, SNV) [3] [4].

Ограничением гипотезы транспортеров служит то, что АЭП имеют разный фармакокинетический профиль. Так, среди наиболее часто применяемых АЭП, леветирацетам является субстратом белка-транспортера Р-гликопротеина (ген *ABCB1*) и BCRP (белка

устойчивости к раку молочной железы, англ. breast cancer resistance protein, ген *ABCG2*), а вальпроевая кислота не связывается с АВС-транспортерами [5]. Активно изучается вклад однонуклеотидных вариантов генов транспортеров в усиление их экспрессии и изменение структурно-функциональных свойств соответствующих белков. Наиболее подробно изучен ген *ABCB1*, его полиморфные варианты *C3435T* (rs1045642), *C1236T* (rs1128503) и *G2677T/A* (rs2032582) связывают с нарушением функции белка и изменением его содержания в тканях, хотя конкретные молекулярные механизмы этой связи до конца не установлены [6].

Цель. Изучение влияния однонуклеотидного варианта rs2032582 *G2677T* гена *ABCB1* на развитие ФРЭ в детском возрасте.

Материалы и методы. В исследование включены 92 пациента детского возраста от 0 до 18 лет, находившиеся на стационарном лечении в психоневрологическом отделении ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России и СПб ГБУЗ «Детская городская больница №22» в период с 2024 по 2025 гг. Все пациенты граждане Российской Федерации. Основная группа (n = 53) - пациенты с ФРЭ, в соответствии с определением ILAE 2010 и контрольная группа (n = 39) - пациенты с достижением стойкой клинической ремиссии приступов в течение не менее 12 месяцев на момент включения в исследование. Все пациенты получали препараты-субстраты Р-гликопротеина (леветирацетам, ламотриджин, лакосамид, окскарбазепин) в моно- или политерапии.

Критерии включения в исследование: возраст от 0 до 18 лет на момент включения в исследование; диагноз «эпилепсия»; прием АЭП-субстратов Р-гликопротеина; наличие подписанного добровольного информированного согласия законных представителей пациента (и самого пациента при достижении возраста 15 лет). Исследование выполнено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации и одобрено Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России (протокол №39/04 от 30 мая 2024 г.).

Критерии исключения: низкая приверженность (комплаентность) к лечению, сопряженная с риском псевдорезистентности; эпилепсия посттравматической этиологии; тяжелые формы эпилептических энцефалопатий.

Всем пациентам осуществляли забор образцов периферической венозной крови в объеме 2–4 мл, выделение геномной ДНК из лейкоцитов проводили методом высаливания. Молекулярно-генетическое тестирование для выявление однонуклеотидного варианта rs2032582 *G2677T* гена *ABCB1* выполняли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (Real-Time ПЦР) с использованием наборов производства компании «Синтол» (Россия) в соответствии с инструкцией производителя.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета программ GraphPad Prism. Сравнение частот аллелей и генотипов между независимыми группами проводили с помощью критерия хи-квадрат Пирсона (χ^2). Для оценки риска развития ФРЭ проводили расчет отношение шансов (ОШ) и относительного риска (ОР) с 95% доверительным интервалом (ДИ). Статистически значимыми считали различия при $p < 0{,}05$.

Результаты и обсуждение. При анализе распределения генотипов и аллелей полиморфного варианта rs2032582 *G2677T* гена *ABCB1* выявлены статистически значимые различия между группой пациентов с ФРЭ и контрольной группой. Генотип G/G чаще

встречался у пациентов контрольной группы, тогда как частота генотипов G/T и T/T была выше у пациентов ФРЭ. Аллель T статистически значимо преобладал в основной группе, аллель G - в контрольной.

При сравнении гомозигот G/G с остальными пациентами, имеющими хотя бы одну копию аллеля T (генотипы G/T и T/T), установлено, что носительство аллеля T значимо чаще встречается у пациентов с ФРЭ, чем в контрольной группе. Расчет ОШ и ОР показал ассоциацию аллеля T ассоциировано с более чем двукратным повышением риска развития фармакорезистентности.

Сравнение гомозигот T/T с пациентами, имеющими генотипы G/G и G/T, статистической значимости не продемонстрировало, однако была определена тенденция к повышению риска ФРЭ у носителей генотипа T/T.

Полученные нами результаты указывают на роль минорного аллеля T варианта rs2032582 гена *ABCB1* как фактора риска ФРЭ. При этом, литературные данные о влиянии варианте *G2677T/A* гена *ABCB1* ограничены и противоречивы. По результатам мета-анализов Giacon и соавт. (2025) и Krami и соавт. (2022), аллель G и генотип GG варианта *G2677T/A* ассоциированы с повышенным риском формирования лекарственной устойчивости у пациентов европейского происхождения [7] [8]. Более ранний мета-анализ Yu и соавт. (2015), напротив, выявил связь фармакорезистентности с аллелем T и генотипом TT у пациентов азиатского происхождения, тогда как у европейцев подобной ассоциации обнаружено не было [9].

Заключение. Носительство аллеля T варианта rs2032582 *G2677T* гена *ABCB1* ассоциировано с повышенным риском фармакорезистентной эпилепсии у детей, что согласуется с гипотезой транспортеров. Полученная ассоциация расходится с рядом мета-анализов, что может быть связано с популяционными и возрастными различиями. Это указывает на необходимость дальнейшего изучения данного варианта у детей на большем числе пациентов.

Выводы.

1. Частота аллеля T и генотипов G/T, T/T значимо выше у детей с ФРЭ, чем в группе пациентов с ремиссией приступов.
2. Носительство аллеля T ассоциировано с более чем двукратным повышением риска ФРЭ.
3. Генотип T/T показывает тенденцию к повышению риска развития ФРЭ, требующую подтверждения на большей выборке.
4. Аллель T может рассматриваться в качестве фармакогенетического маркера неэффективности противоэпилептической терапии.

Список литературы:

1. *Kwan P. и др. Definition of drug resistant epilepsy: consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. // Epilepsia. 2010a. T. 51. № 6. C. 1069–1077.*
2. *Czornyj L., Auzmendi J., Lazarowski A. Transporter hypothesis in pharmacoresistant epilepsies. Is it at the central or peripheral level? // Epilepsia Open. 2022b. T. 7 Suppl 1. № Suppl 1. C. S34–S46.*
3. *Perucca E. и др. Drug resistance in epilepsy. // Lancet Neurol. 2023c. T. 22. № 8. C. 723–734.*

4. *Auzmendi J.A. u dr. P-glycoprotein contributes to cell membrane depolarization of hippocampus and neocortex in a model of repetitive seizures induced by pentylenetetrazole in rats. // Curr. Pharm. Des. 2013d. T. 19. № 38. C. 6732–6738.*
5. *Galankin N.A. u dr. Impact of CYP2C9, CYP2C19 and ABCB1 genetic polymorphisms on antiepileptic drug safety and efficacy // Èpilepsiâ paroksizmal'nye sostoâ. 2025e. T. 17. № 1. C. 70–81.*
6. *Zawadzka I. u dr. The impact of ABCB1 gene polymorphism and its expression on non-small-cell lung cancer development, progression and therapy - preliminary report. // Sci. Rep. 2020f. T. 10. № 1. C. 6188.*
7. *Krami A.M. u dr. Association between G2677T/A polymorphism in ABCB1 gene and the risk of drug resistance epilepsy: An updated systematic review and meta-analysis. // Epilepsy Res. 2022g. T. 185. C. 106977.*
8. *Giacon M., Cargnin S., Terrazzino S. Credibility of genetic predictors for antiepileptic drug resistance: A systematic Bayesian reappraisal of published meta-analyses. // Br. J. Clin. Pharmacol. 2025h. T. 91. № 10. C. 2782–2795.*
9. *Yu L. u dr. ABCB1 G2677T/A polymorphism is associated with the risk of drug-resistant epilepsy in Asians. // Epilepsy Res. 2015i. T. 115. C. 100–108.*

* * *

ВЛИЯНИЕ КИССПЕПТИНА-6 И КИССПЕПТИНА-10 НА ЭКСПРЕССИЮ АНДРОГЕНОВОГО РЕЦЕПТОРА У *DANIO RERIO* ПОСЛЕ СОЦИАЛЬНОЙ ИЗОЛЯЦИИ В ТЕСТЕ ПОЛОВОГО ПОВЕДЕНИЯ

Гольц В.А., Косякова Г.П., Рейпольская Т.Ю., Танянский Д.А., Перова А.П.

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Аннотация. *Цель работы: Оценить влияние кисспептина-6 и кисспептина-10 на экспрессию андрогенового рецептора в мозговой ткани Danio rerio после социальной изоляции и последующего теста полового поведения. Рыб Danio rerio (n=80) содержали в стандартных условиях. Социальную изоляцию моделировали индивидуальным содержанием в ёмкостях 200 мл в течение 48 ч. Половое поведение оценивали в смешанных группах (7 самцов + 4 самки) в течение суток с видеорегистрацией. Вводили кисспептин-6, кисспептин-10 (по 0,1 мг/л) или хорионический гонадотропин человека (ХГЧ, 0,1 мг/л). В мозговой ткани методом ПЦР в реальном времени определяли уровень мРНК андрогенового рецептора. Экспрессия андрогенового рецептора после изоляции снижалась, а введение кисспептинов частично восстанавливало её.*

Ключевые слова: *Danio rerio; социальная изоляция; половое поведение; кисспептин-6; кисспептин-10; андрогеновый рецептор.*

Введение. Социальная изоляция у *Danio rerio* рассматривается как воспроизводимая модель стрессового воздействия [1]. Важный аспект таких моделей состоит в том, что стрессовые эффекты у рыб проявляются не только на уровне поведения, но и на уровне экспрессии генов, вовлечённых в нейроэндокринные механизмы, связывающие стресс и репродуктивную регуляцию [2]. Одним из ключевых звеньев является кисспептинергическая система, которая у позвоночных участвует в контроле оси «мозг–гипофиз–гонады» и чувствительна к стрессовым воздействиям. У костистых рыб кисспептиновая система отличается от млекопитающих тем, что вследствие дупликаций у телеостов представлены несколько паралогов лигандов и рецепторов, что создаёт предпосылки для функциональной дивергенции отдельных компонентов [3, 4]. При этом у телеостов кисспептиновая система не всегда является строго обязательной для фертильности в том смысле, как это описано у млекопитающих, однако регуляторные роли на уровне оси «мозг–гипофиз–гонады» сохраняются и могут реализовываться через разные ветви нейроэндокринной регуляции [5]. Результаты на нокаутных рыбах *Danio rerio* и медаке поставили под сомнение представление о том, что кисспептиновая система необходима для репродукции у рыб, в резком контрасте с ситуацией у млекопитающих [1]. Особое внимание привлекает то, что у *Danio rerio* Kiss-сигналинг связан не только с репродуктивной регуляцией, но и с эмоционально-поведенческими реакциями. Так, *kiss1* у данио выраженно представлен в хабенуле, а хабенулярный Kiss-контур обсуждается как возможный узел, связывающий репродукцию и эмоции/мотивацию [5, 6]. Кроме того, андрогены и их рецепторы играют важную роль в репродуктивной физиологии костистых

рыб, включая регуляцию сперматогенеза и полового поведения [7]. В связи с чем было проанализировано, как стресс социальной изоляции влияет на андрогеновую систему рыб *Danio rerio*.

Цель. Оценить влияние кисспептина-6 и кисспептина-10 на экспрессию андрогенового рецептора в мозговой ткани *Danio rerio* после 48-часовой социальной изоляции и последующего теста полового поведения.

Материалы и методы. В исследовании использовали 80 рыб *Danio rerio*, выращенных в лаборатории общей фармакологии ФГБНУ «ИЭМ». До начала эксперимента животных выдерживали в течение двух недель для адаптации и карантина. Социальную изоляцию моделировали индивидуальным содержанием рыб в ёмкостях объёмом 200 мл в течение 48 ч. После завершения изоляции формировали экспериментальные условия для интактных рыб и изолянтов. В каждой выборке применяли кисспептин-6 или кисспептин-10 в концентрации 0,1 мг/л; препаратом сравнения служил хорионический гонадотропин человека (ХГЧ) в концентрации 0,1 мг/л. Таким образом, анализ включал контроль, ХГЧ-контроль, кисспептин-10, кисспептин-6, изолянтов без воздействия, изолянтов с ХГЧ, изолянтов с кисспептином-10 и изолянтов с кисспептином-6. Для теста полового поведения отбирали самцов и самок; пол определяли визуально по внешним морфологическим признакам. В общий аквариум помещали 7 самцов и 4 самки, после чего поведение регистрировали на видео в течение суток. По окончании наблюдения животных выводили из эксперимента, извлекали мозг и выделяли РНК. После обратной транскрипции методом ПЦР в реальном времени определяли относительный уровень мРНК *Ar*. В качестве референсного гена использовали *gapdh* (GAPDH). Для *ar* использовали прямой праймер **CGCGACAGACGCTAAATGTG** и обратный праймер **GTTGCTTGTGTCAGCCAGTG** (длина ампликона 162 п.н.) Эксперимент проводили с соблюдением международных рекомендаций по содержанию и использованию лабораторных животных и положений Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» (протокол № 6 от 14.06.2022).

Результаты и обсуждение. В группе социальной изоляции наблюдалось снижение уровня показателя по сравнению с контролем. Введение ХГЧ на фоне изоляции сопровождалось увеличением показателя относительно изолянтов без вмешательства, однако значения оставались ниже уровня группы ХГЧ без изоляции. В условиях отсутствия изоляции введение KS6 и KS10 сопровождалось повышением уровня AR по сравнению с контролем, причём у части животных эффект был выраженным. На фоне изоляции введение KS6 приводило к увеличению уровня AR по сравнению с изоляцией без вмешательства, тогда как при KS10 на фоне изоляции сохранялся более низкий уровень показателя по сравнению с контролем и с группой KS10 без изоляции. В целом полученный профиль указывает, что стресс снижает экспрессию андрогенового рецептора, а репродуктивный стимулятор (ХГЧ) и кисспептиновые воздействия способны сдвигать показатель в сторону контроля, однако выраженность этого сдвига зависит от условий и типа вмешательства.

В отношении андрогенового рецептора у рыб мы выявили снижение его экспрессии в мозге после социальной изоляции и частичное восстановление под влиянием кисспептинов. Такоеизменение может отражать тканеспецифичные и видоспецифичные механизмы адаптации. Однако кисспептин действует как нормализатор, возвращая по-

казатели к контрольному уровню, что свидетельствует о его регуляторной роли в стресс-индуцированных изменениях андрогеновой сигнализации.

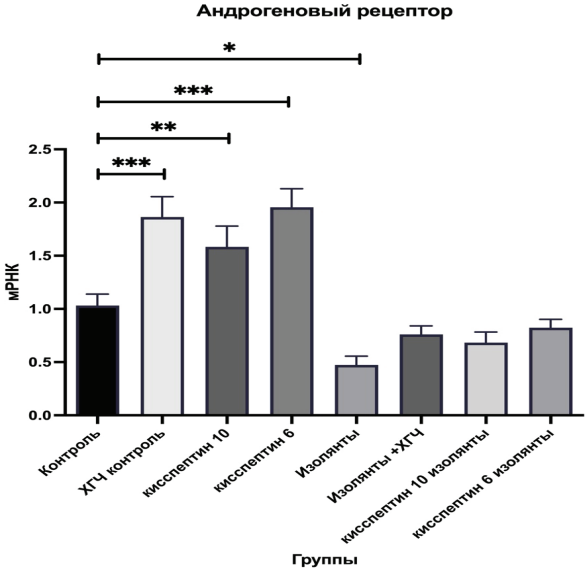


Рис.1.
Относительный уровень мРНК *Ar* в мозговой ткани *Danio rerio.* * $p < 0,5$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о том, что социальная изоляция у *Danio rerio* в сочетании с последующим тестом полового поведения сопровождается перестройкой экспрессии компонентов андрогеновой систем в мозговой ткани. Социальная изоляция сопровождалась снижением экспрессии андрогенового рецептора, а введение кисспептинов и ХГЧ в ряде условий приводило к повышению данного показателя, что указывает на вовлечённость андрогенового звена в наблюдаемые эффекты.

Выводы. Стресс-индуцированные изменения экспрессии андрогеновых рецепторов, а также способность кисспептина-10 нормализовать эти изменения, имеют место как у костистых рыб, так и у млекопитающих. Это позволяет рассматривать кисспептиновую систему как эволюционно консервативный механизм интеграции стресса и репродуктивной функции и её прямое влияние на андрогеновую систему.

Список литературы:

1. *Wang B. Overview and new insights into the diversity, evolution, role, and regulation of kisspeptins and their receptors in teleost fish / B. Wang, A. S. Mechaly, G. M. Somoza // Frontiers in Endocrinology. — 2022. — Vol. 13. — Art. 862614. — DOI: 10.3389/fendo.2022.862614.*

2. *Козлов А.Ю. Нейроэндокринные механизмы взаимодействия стрессовой и репродуктивной систем у позвоночных./А.Ю Козлов ,А.А. Баранов , О.В.Смирнова // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. —2020.— Т. 56. №7.— С:612-619. —DOI:10.31857/S0044452920070098*
3. *Felip A. Differential activation of kiss receptors by Kiss1 and Kiss2 peptides in the sea bass / A. Felip, F. Espigares, S. Zanuy, A. Gómez // Reproduction. — 2015. — Vol. 150, no. 3. — P. 227–243. — DOI: 10.1530/REP-15-0204.*
4. *Akazome Y. Functional and evolutionary insights into vertebrate kisspeptin systems from studies of fish brain./ Y. Akazome ,S. Kanda ,K. Okubo ,Y. Oka.// J Fish Biol.— 2010.— Vol.76, no.— P.:161-182. DOI:10.1111/j.1095-8649.2009.02496.x*
5. *Ogawa S. Biological significance of kisspeptin–Kiss1 receptor signaling in the habenula of teleost species / S. Ogawa, I. S. Parhar // Frontiers in Endocrinology. — 2018. — Vol. 9. — Art. 222. — DOI: 10.3389/fendo.2018.00222.*
6. *Darrow K. O. Characterization and development of courtship in zebrafish, Danio rerio / K. O. Darrow, W. A. Harris // Zebrafish. — 2004. — Vol. 1, no. 1. — P. 40–45. — DOI: 10.1089/154585404774101662.*
7. *Borg B. Androgens in teleost fishes. Comp Biochem Physiol C. —1994. Vol. 109, no.3.— P.:219-245. DOI:10.1016/0742-8413(94)00063-G*

* * *

ГЕНЕРАЛИЗОВАННАЯ ЛИМФАТИЧЕСКАЯ АНОМАЛИЯ: СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПАТОГЕНЕЗЕ, ДИАГНОСТИКЕ И ТЕРАПИИ

Горшков Г.А., Колокольцев К.М.

Национальный институт организации медицинской деятельности, Москва

Введение. Генерализованная лимфатическая аномалия (ГЛА) представляет собой редкую врожденную патологию, которая носит мультисистемный характер [4]. В соответствии с классификацией Международного общества по изучению сосудистых аномалий (ISSVA, 2018) ГЛА выделена в самостоятельную нозологическую единицу в группе лимфатических аномалий, куда также входят кистозные лимфатические мальформации и болезнь Горхема–Стоута [6].

Несмотря на доброкачественную природу, заболевание прогрессирует и способно приводить к дисфункции жизненно важных органов, что определяет высокую клиническую значимость проблемы. Сложность диагностики ГЛА обусловлена её редкостью, отсутствием патогномоничных симптомов на ранних стадиях и выраженным клиническим полиморфизмом. Это часто становится причиной ошибочных диагнозов и задержки начала терапии [7].

За последние годы достигнут существенный прогресс в понимании молекулярных основ заболевания. У пациентов идентифицированы активирующие соматические мутации гена PIK3CA, которые нарушают нормальный лимфангиогенез. Эти открытия открыли перспективы для таргетной терапии — в частности, применения ингибиторов mTOR (например, сиролимуса/рапамицина) [11].

Цель. Систематизировать современные данные о патогенезе, диагностических подходах и стратегиях лечения генерализованных лимфатических аномалий (ГЛА), акцентируя внимание на молекулярно-генетических основах заболевания и мультидисциплинарном подходе к ведению пациентов.

Материалы и методы. В работе использованы следующие методы:

Молекулярно-генетические методы — выявляют соматические мутации в генах, регулирующих лимфангиогенез: PIK3CA (путь PI3K/AKT/mTOR), VEGFR3, FOXC2, CCBE1.

Визуализирующие технологии — УЗИ (в том числе с допплером), МРТ и КТ, МР-лимфангиография (специфичный метод для изучения состояния лимфатических сосудов).

Эндоваскулярные (рентгенохирургические) процедуры — склеротерапия и эмболизация.

Хирургические и минимально инвазивные техники — радикальное иссечение применяют с осторожностью из-за риска осложнений (повреждение нервов, лимфостаз, рецидивы). Чаще стремятся к максимально полному, но щадящему удалению с сохранением функции тканей.

Результаты и обсуждение.

1. Эпидемиология и этиология

ГЛА является редкой врожденной лимфатической мальформацией (ЛМ), характеризующейся множественными инфильтрирующими лимфангиомами в различных тканях. Из-за низкой частоты встречаемости сведения о болезни в основном основаны на отдельных клинических наблюдениях, что нередко приводит к задержкам в постановке диагноза.

Как правило, ГЛА манифестирует в детском или молодом возрасте. При этом более ранний дебют ассоциирован с более агрессивным течением заболевания и повышенным риском летального исхода на фоне развития полиорганной недостаточности [12].

Ключевым звеном патогенеза ГЛА в настоящее время считаются соматические (не наследуемые) активирующие мутации в гене PIK3CA, который кодирует каталитическую субъединицу сигнального белка PI3K. Эти мутации в гене PIK3CA возникают постзиготически и приводят к усилению функции белка PI3K, что вызывает конститутивную (постоянную, не зависящую от внешних сигналов) активацию нижестоящих сигнальных каскадов, в частности пути AKT/mTOR. Этот путь в норме регулирует ключевые процессы: клеточную пролиферацию, выживание клеток, рост тканей, а также участвует в формировании сосудистой системы на эмбриональной стадии развития. Такие мутации являются спорадическими, с мозаичным распределением поражённых тканей, что, в свою очередь, стимулирует патологическую пролиферацию эндотелиальных клеток лимфатических сосудов и их аномальное расширение. Если бы такие мутации присутствовали в гаметах (на зародышевом уровне), они, скорее всего, оказались бы летальными для эмбриона. Именно поэтому мы наблюдаем их исключительно в мозаичном состоянии — то есть возникшими уже после оплодотворения, на ранних стадиях дробления зиготы. Около 80% мутаций происходят в трёх «горячих точках»: E542, E545 и H1047. Эти мутации оказывают наиболее мощное влияние на ферментативную активацию PI3K и последующие биологические реакции. Помимо мутаций PIK3CA, в патогенезе ГЛА могут участвовать и мутации в гене PIK3CD, также нарушающие нормальный лимфангиогенез [9].

2. Патоморфология и клиническая картина

Морфологическим субстратом ГЛА служит диффузная пролиферация тонкостенных, патологически расширенных лимфатических сосудов, выстланных эндотелием. При иммуногистохимическом исследовании в клетках выявляют маркеры, характерные для лимфатического эндотелия: D2-40 (podoplanin), CD31, CD34, ERG. При этом пролиферативная активность, оцениваемая по индексу Ki67, обычно невысока (до 20%) [5].

Одной из наиболее тяжёлых и жизнеугрожающих клинических манифестаций ГЛА является поражение плевры с развитием хилоторакса — скопления лимфатической жидкости в плевральной полости. В ряде случаев хилоторакс носит геморрагический характер, что значительно утяжеляет состояние пациента и нередко требует экстренного дренирования [2].

В литературе описаны случаи сочетания ГЛА с другими патологиями, что способно существенно осложнять диагностику и выбор тактики лечения. В частности, в клиническом случае 2026 года представлена редкая коморбидность ГЛА и туберкулёза у 14-летней пациентки с двусторонним хилотораксом. В такой ситуации потребовался комплексный подход: назначение сиролимуса (ингибитора mTOR-пути, который подавляет патологически активированный сигнальный каскад) в сочетании с противотуберкулёзной терапией [10].

3. Диагностика

Диагностика ГЛА строится на комплексном подходе, включающем инструментальные, лабораторные и морфологические методы.

Лучевая диагностика:

Метод	Характерные изменения
КТ грудной клетки и брюшной полости	Множественные кистозные/гиподенсные образования в печени, селезенке, средостении, остеолитические очаги в костях
МРТ	Т2-гиперинтенсивные кистозные образования без накопления контраста
УЗИ брюшной полости	Анэхогенные кистозные образования в печени, селезенке
МР-лимфангиография	Визуализация аномальных лимфатических сосудов и лимфореи

Иммуногистохимическое исследование биоптатов позволяет подтвердить лимфатическое происхождение пролиферата: иммунофенотип CD31+, CD34+, D2-40+, ERG+ при отрицательных маркерах CD68, S100, Melan A и CD45.

4. Лечение

Современные методы лечения ГЛА включают:

Таргетная терапия:

Сиролимус (рапамицин) — ингибитор mTOR, блокирующий сигнальный путь PI3K/AKT/mTOR. Показал эффективность при сложных, в том числе генерализованных, формах: помогает уменьшить объём патологической ткани, воспаление и улучшить качество жизни пациента. Дозу подбирают индивидуально, контролируя концентрацию в крови. Однако у препарата есть побочные эффекты (например, артрит, угнетение кроветворения), поэтому требуется тщательное наблюдение [8].

Алпелисиб — селективный ингибитор PI3K-α. Если генетический анализ выявляет конкретную мутацию (в генах PIK3CA, NRAS, CBL, KRAS, ARAF), врач может назначить таргетный препарат. В 2022 году алпелисиб одобрен FDA для лечения PROS-синдромов у детей старше двух лет и взрослых [1, 3].

Симптоматическая терапия:

Синтетические аналоги соматостатина (например, октреотид). Их назначают, чтобы снизить выработку лимфы — это особенно актуально при хилезных выпотах (скоплении лимфы в полостях тела). Если на фоне такой терапии нет эффекта в течение 10–14 дней, переходят к более серьёзным методам.

Локальные малоинвазивные методы:

Склеротерапия. В полость лимфатической мальформации вводят специальное вещество (склерозант), которое вызывает воспаление и последующее склерозирование (замещение) ткани. Метод особенно эффективен при макрокистозных формах. Иногда его комбинируют с другими подходами.

Эмболизация. Суть в том, что через катетер в патологически расширенные или аномально соединённые лимфатические сосуды вводят эмболизирующие материалы

(спирали, микроспирали, клеи). Это блокирует кровоснабжение и лимфооттток в конкретном участке, прекращая утечку лимфы (например, при хилотораксе или лимфорее).

Заключение. ГЛА представляет собой сложный клинический синдром, в основе которого лежат молекулярно-генетические нарушения. Ранняя диагностика, мультидисциплинарный подход и своевременное назначение таргетной терапии являются ключевыми факторами улучшения прогноза у этой категории пациентов. Дальнейшие исследования должны быть направлены на уточнение молекулярных механизмов заболевания и разработку стандартизированных алгоритмов ведения пациентов. Терапевтическая тактика при ГЛА должна быть мультидисциплинарной и индивидуальной.

Выводы.

1. ГЛА — редкое мультисистемное заболевание, обусловленное соматическими мутациями в генах PIK3CA, VEGFR3, FOXC2, CCBE1, приводящими к нарушению лимфангиогенеза.

2. Диагностика ГЛА требует комплексного подхода, включающего лучевые методы визуализации (УЗИ, КТ, МРТ), гистологическое и иммуногистохимическое исследование (D2-40, CD31, CD34, ERG), а также генетическое тестирование для выявления мутаций.

3. Препаратом выбора таргетной терапии является сиролимус (ингибитор mTOR), эффективность которого подтверждена в многочисленных клинических наблюдениях. При наличии специфических мутаций возможно применение алпелисиба.

4. Лечение ГЛА должно быть мультидисциплинарным и индивидуальным, включая таргетную терапию, склеротерапию, эмболизацию и хирургическое вмешательство.

5. Ранняя диагностика и своевременное начало терапии позволяют стабилизировать состояние пациентов и предотвратить прогрессирование полиорганной недостаточности.

Список литературы:

1. *Гурская А.С., Сулавко М.А., Баязитов Р.Р., Екимовская Е.В., Наковкин О.Н., Карнута И.В., Клепикова А.А., Сагоян Г.Б., Хагуров Р.А., Фисенко А.П. Диагностика и лечение лимфатических мальформаций: опыт хирургического отделения новорождённых и детей грудного возраста. Российский педиатрический журнал. 2023; 26(4): 242–251. https://doi.org/10.46563/1560-9561-2023-26-4-242-251*
2. *Макарова М.А., Баймаканова Г.Е., Красовский С.А. Дифференциальная диагностика хилоторакса в терапевтической практике. Терапевтический архив. 2021. Т. 93. № 3. С. 300–308. https://doi.org/10.26442/00403660.2021.03.200658*
3. *Canaud G., Gutierrez J.C.L., Irvine A. et al. Alpelisib for treatment of patients with PIK3CA-related overgrowth spectrum (PROS). Genet Med. 2023 Dec;25(12):100969. doi: 10.1016/j.gim.2023.100969*
4. *Clapp A., Shawber C.J., Wu J.K. Pathophysiology of slow-flow vascular malformations: current understanding and unanswered questions. Journal of Vascular Anomalies. 2023;4(3):e069. doi: 10.1097/JOVA.0000000000000069*
5. *Jin Z-W., Aoki M., Ueda K. et al. Human lymph node degeneration in the thoracic region: A morphometric and immunohistochemical analysis using surgically obtained specimens. Physiol., 14 September 2022. Sec. Vascular Physiology. Vol. 13 – 2022. https://doi.org/10.3389/fphys.2022.990801*

6. *Liu X., Cheng C., Chen K. et al. Recent Progress in Lymphangioma. Pediatr., 15 December 2021. Sec. Pediatric Oncology. Vol. 9 – 2021. https://doi.org/10.3389/fped.2021.735832*
7. *Liu T., Basseri S., Mussari B. et al. Generalized lymphatic anomalies and review of the current management landscape: a case report and review of the literature. Journal of Medical Case Reports. 2021. Vol. 15. No. 1. DOI: 10.1186/s13256-021-02953-9*
8. *Ozuki M., Endo S., Yasue S. et al. Sirolimus treatment for intractable lymphatic anomalies: an open-label, single-arm, multicenter, prospective trial. Med., 08 February 2024. Sec. Respiratory Medicine. Vol. 11 – 2024. https://doi.org/10.3389/fmed.2024.1335469*
9. *Pagliazzi F., Oranges T., Traficante G. et al. PIK3CA-Related Overgrowth Spectrum From Diagnosis to Targeted Therapy: A Case of CLOVES Syndrome Treated With Alpelisib. Pediatr., 09 September 2021. Sec. Children and Health. Vol. 9 – 2021. https://doi.org/10.3389/fped.2021.732836*
10. *Singhal K.K., Mandal P., Singh V. et al. Sirolimus Therapy in Generalized Lymphatic Anomaly With Tuberculosis: A Case Report. Pediatric Pulmonology. 2026. DOI: 10.1002/ppul.71571*
11. *Wang H., Tang R., Jiang L. et al. The role of PIK3CA gene mutations in colorectal cancer and the selection of treatment strategies. Pharmacol., 30 October 2024. Sec. Pharmacology of Anti-Cancer Drugs. Vol. 15 – 2024. https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1494802*
12. *Zhang X., Wang J., Duan S. et al. Generalized lymphatic anomaly in a pediatric patient manifesting as a rare presentation of hemorrhagic pleural effusion: a case report. BMC Pediatrics. 2025. DOI: 10.1186/s12887-024-05350-5*

✶ ✶ ✶

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ИСКУССТВЕННОГО ИНТЕЛЛЕКТА ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ К АНТИБИОТИКАМ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Гребенников М.А., Вирко В.А.
Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Аннотация. *Устойчивость микроорганизмов к антимикробным препаратам (AMR) – серьёзная угроза здравоохранению. Традиционные методы определения чувствительности требуют много времени, что затрудняет выбор эффективной терапии. Цель обзора – систематизировать современные подходы прогнозирования устойчивости с использованием искусственного интеллекта и машинного обучения, оценить их эффективность и перспективы внедрения. Материал и методы: поиск в Scopus, Web of Science, MedLine, РИНЦ за 2016–2026 гг. Отобрано 98 источников, цитированы 17. Результаты: проанализированы основные модели (SVM, Random Forest, XGBoost, нейросети) для геномных, протеомных и клинических данных. Модели достигают AUC до 0,99, выявляют новые маркеры резистентности. Рассмотрены подходы на основе секвенирования, MALDI-TOF и медицинских записей. Заключение: ИИ перспективен для прогнозирования AMR, необходим прогресс в геномных моделях, стандартизация и объяснимые алгоритмы.*

Ключевые слова: *искусственный интеллект, машинное обучение, антибиотикорезистентность, AMR, геномные данные.*

Введение. Устойчивость микроорганизмов к антимикробным препаратам признана Всемирной организацией здравоохранения одной из десяти основных угроз глобальному здоровью человечества. По данным глобального исследования бремени AMR, в 2019 г. около 4,95 млн случаев смерти были связаны с инфекциями, вызванными антибиотикорезистентными бактериями, из которых 1,27 млн непосредственно обусловлены бактериальной резистентностью. Прогнозы указывают, что к 2050 г. смертность от AMR может достигнуть 10 млн человек в год, что поставит эту проблему на третье место среди причин смерти в мире [1].

Традиционный подход к определению чувствительности возбудителя к антибиотикам основан на культуральных методах и антибиотикограмме, которые требуют от 2 до 5 суток для получения результата. В условиях, когда решение о назначении антибиотикотерапии необходимо принимать немедленно, врачи вынуждены назначать эмпирическую терапию, что нередко приводит к неоправданному применению антибиотиков широкого спектра и ускоряет развитие резистентности [2].

Стремительное развитие технологий высокопроизводительного секвенирования привело к экспоненциальному росту объема геномных данных микроорганизмов. Одновременно с этим достижения в области искусственного интеллекта (ИИ) и машинного обучения (МО) открыли новые возможности для анализа многомерных биомедицинских данных и прогнозирования фенотипов резистентности [3, 4].

Цель. Систематизировать современные подходы к применению методов искусственного интеллекта для прогнозирования устойчивости микроорганизмов к антибиотикам, оценить их диагностическую эффективность и перспективы внедрения в клиническую практику.

Материалы и методы. Поиск литературы проводился в электронных базах данных Scopus, Web of Science, MedLine, PubMed, eLibrary (РИНЦ) и CyberLeninka. Глубина поиска составила преимущественно 10 лет (2016–2026 гг.), однако для описания основополагающих алгоритмов использовались ключевые работы более раннего периода. Поисковые запросы включали комбинации ключевых слов на русском и английском языках: «искусственный интеллект», «машинное обучение», «глубокое обучение», «антибиотикорезистентность», «прогнозирование устойчивости», «геномные данные», «artificial intelligence», «machine learning», «deep learning», «antimicrobial resistance», «antibiotic resistance prediction», «genomic prediction». В обзор включались оригинальные статьи, клинические исследования и систематические обзоры, посвященные разработке и применению моделей ИИ для прогнозирования AMR. При составлении обзора авторы руководствовались международными рекомендациями по систематическому поиску литературы [5].

Результаты и обсуждение.

1. Основные методы машинного обучения для прогнозирования AMR

В современной практике прогнозирования антибиотикорезистентности применяются различные алгоритмы машинного обучения. Наибольшее распространение получили методы опорных векторов (SVM), случайный лес (Random Forest), градиентный бустинг (XGBoost) и искусственные нейронные сети [6].

Исследование, проведенное на основе данных Pfizer ATLAS, включающих 917 049 бактериальных изолятов с информацией о демографических характеристиках пациентов, результатах антибиотикограмм и фенотипах резистентности, показало, что модель XGBoost достигла значений площади под ROC-кривой (AUC) 0,96 и 0,95 при прогнозировании резистентности на основе только фенотипических данных и комбинированных фенотипических и генотипических данных соответственно [7].

В работе по прогнозированию резистентности *Staphylococcus aureus* на основе данных полногеномного секвенирования 3979 штаммов были разработаны модели для 10 наиболее распространённых антибиотиков. Значения AUC варьировали от 0,8345 до 0,9995, при этом для шести антибиотиков (цефокситин, тетрациклин, метициллин, гентамицин, эритромицин, клиндамицин) AUC превысил 0,99. Модели на основе генов и комбинированных признаков демонстрировали существенно более высокую точность по сравнению с моделями на основе однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) и k-меров [8].

2. Прогнозирование на основе геномных данных

Машинное обучение на основе данных полногеномного секвенирования является одним из наиболее перспективных подходов к прогнозированию AMR. Ключевое преимущество геномных моделей заключается в их способности выявлять новые молекулярные маркеры резистентности, не ограничиваясь известными генами устойчивости, что особенно важно для мониторинга emerging resistance [9].

В исследовании, посвящённом прогнозированию резистентности *Escherichia coli* на основе 4300 полных геномных последовательностей с лабораторными данными о чув-

ствительности к 34 антимикробным препаратам, модели градиентного бустинга, SVM и искусственных нейронных сетей достигли средней точности 93,6 %, 92,7 % и 92,8 % соответственно. Эти показатели значительно превзошли результаты традиционных баз данных генов резистентности (AMRFinderPlus – 63,9 %, ResFinder – 75,7 %) [10].

Мультимасштабный подход, предложенный для прогнозирования AMR у патогенов группы ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp.), продемонстрировал медианный нормализованный коэффициент корреляции Мэтьюса 0,89 при сохранении устойчивости прогнозов при тестировании на географически и темпорально разделенных выборках. Модели позволили не только предсказывать резистентность, но и идентифицировать как известные, так и новые кандидатные молекулярные признаки устойчивости [11].

3. Прогнозирование на основе клинических и эпидемиологических данных

Помимо геномных подходов, значительный интерес представляют модели, использующие рутинно собираемые клинические данные. Метод глубокого обучения на основе трансформеров, обученный на 3 млн результатов антибиотикограмм из 30 европейских стран, достиг средней точности 93 % при прогнозировании антибиотикочувствительности. Частота major errors (ложнорезистентных результатов) составила менее 5 % для хинолонов, цефалоспоринов и карбапенемов. Важной особенностью данной модели является возможность оценки неопределенности прогноза на уровне конкретного пациента с использованием конформного прогнозирования [12].

Модели машинного обучения на основе электронных медицинских записей также показали свою эффективность. В работе, использующей данные 49 872 инфекций (мочевыводящих путей, крови и дыхательных путей) из электронной системы здравоохранения Stanford, были разработаны «персонализированные антибиотикограммы» для прогнозирования резистентности к пяти ключевым антибиотикам [13].

Исследование, проведенное в Hôpital Européen Marseille на основе 44 026 клинических случаев за 7 лет, показало, что многослойные плотные нейронные сети и байесовские модели пригодны для раннего прогнозирования антибиотикочувствительности с AUC 0,88 на этапе положительного посева и 0,92 на этапе идентификации вида [14].

4. Прогнозирование на основе масс-спектрометрии MALDITOF

Метод MALDITOF масс-спектрометрии, широко используемый для идентификации микроорганизмов, в сочетании с алгоритмами машинного обучения также показывает высокую эффективность для прогнозирования AMR. Систематический обзор подтвердил, что случайный лес, SVM и логистическая регрессия являются эффективными методами для прогнозирования антибиотикорезистентности на основе данных MALDITOF MS [15].

5. Вызовы и перспективы

Несмотря на значительные успехи, внедрение методов ИИ в клиническую практику для прогнозирования AMR сталкивается с рядом вызовов. Во-первых, это проблема интерпретируемости моделей – для принятия клинических решений врачам необходимо понимать, на основании каких признаков модель делает прогноз. Во-вторых, требуется стандартизация и агрегация данных из различных источников для создания репрезентативных обучающих выборок. В-третьих, необходима проспективная клиническая валидация разработанных моделей [16].

Применение методов объяснимого ИИ (XAI), таких как SHAP-анализ, позволяет повысить доверие клиницистов к моделям. Использование XGBoost с расчётом важности признаков позволило выявить сложные взаимосвязи между резистентностью к различным антибиотикам и классами антибиотиков, что имеет значение для понимания механизмов перекрёстной резистентности [7, 17].

Заключение. Методы искусственного интеллекта и машинного обучения представляют собой мощный инструмент для прогнозирования устойчивости микроорганизмов к антибиотикам. Современные модели демонстрируют высокую точность, в ряде случаев превышающую 90 %, и способность выявлять новые молекулярные маркеры резистентности. Наибольший прогресс достигнут в области прогнозирования на основе данных полногеномного секвенирования и клинических антибиотикограмм. Однако для широкого клинического внедрения необходимы дальнейшие исследования по стандартизации данных, разработке интерпретируемых алгоритмов и проведению проспективных многоцентровых валидационных исследований.

Выводы.

1. Современные методы машинного обучения (XGBoost, Random Forest, глубокие нейронные сети) позволяют прогнозировать антибиотикорезистентность с высокой точностью (AUC до 0,99), сравнимой или превышающей традиционные методы.
2. Геномные модели, использующие данные полногеномного секвенирования, превосходят по точности базы данных известных генов резистентности (93,6 % против 63,9–75,7 %) и способны идентифицировать новые маркеры устойчивости.
3. Модели на основе клинических данных (электронные медицинские записи, антибиотикограммы) позволяют прогнозировать резистентность на ранних этапах диагностики, до получения результатов культурального исследования.
4. Ключевыми вызовами для клинического внедрения остаются интерпретируемость моделей, доступность размеченных данных и необходимость проспективной валидации.
5. Разработка и внедрение систем поддержки принятия решений на основе ИИ является перспективным направлением для оптимизации антибиотикотерапии и сдерживания распространения антибиотикорезистентности.

Список литературы:

1. *Murray C.J., Ikuta K.S., Sharara F., et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis // Lancet. – 2022. – Vol. 399, No. 10325. – P. 629-655.*
2. *Vihta K.D., Pritchard E., Pouwels K.B., et al. Predicting future hospital antimicrobial resistance prevalence using machine learning // Communications Medicine. – 2024. – Vol. 4, No. 1.*
3. *Ghosh A., et al. From sequence to signature: Machine learning uncovers multiscale feature landscapes that predict AMR across ESKAPE pathogens // bioRxiv. – 2025. – doi: 10.1101/2025.07.03.663053.*
4. *Confidence-based prediction of antibiotic resistance at the patient level // mBio. – 2025. – Vol. 17, No. 2.*
5. *Moher D., Liberati A., Tetzlaff J., Altman D.G., PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement // J Clin Epidemiol. – 2009. – Vol. 62, No. 10. – P. 1006-1012.*

6. *Machine learning methods to identify markers and predict antimicrobial resistance in Escherichia coli // Canadian Journal of Microbiology. – 2025. – Vol. 71. – P. 1-15.*
7. *Prediction of antibiotic resistance from antibiotic susceptibility testing results from surveillance data using machine learning // Scientific Reports. – 2025. – Vol. 15, Article 30509.*
8. *Prediction of antimicrobial resistance in Staphylococcus aureus with a machine learning classifier based on WGS data // Microbiology Spectrum. – 2025.*
9. *Artificial intelligence in predicting pathogenic microorganisms' antimicrobial resistance: challenges, progress, and prospects // Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. – 2024. – Vol. 14, 1482186.*
10. *Machine learning and matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectra for antimicrobial resistance prediction: A systematic review // Journal of Chromatography A. – 2024. – Vol. 1732, 465262.*
11. *Macesic N., Polubriaginof F., Tatonetti N.P., et al. Machine learning for antimicrobial resistance prediction. Nature Reviews Microbiology. 2023. Vol. 21, No. 12. P. 789–802.*
12. *Liu Y., et al. Deep learning for antimicrobial resistance prediction from genomic data: a systematic review // Briefings in Bioinformatics. – 2024. – Vol. 25, No. 3.*
13. *Martinez Agüero S., et al. Machine learning models for predicting antibiotic resistance in urinary tract infections // J Antimicrob Chemother. – 2023. – Vol. 78, No. 8. – P. 1935-1942.*
14. *Van Belkum A., et al. Rapid antimicrobial susceptibility testing: from research to clinical implementation // Clin Microbiol Rev. – 2023. – Vol. 36, No. 1. – e00015-22.*
15. *Weis C., et al. MALDI TOF MS combined with machine learning for rapid detection of antimicrobial resistance – a systematic review // Clin Microbiol Infect. – 2024. – Vol. 30, No. 5. – P. 590-598.*
16. *Goodman K.E., et al. Machine learning and antibiotic stewardship: current state and future directions // Clin Infect Dis. – 2024. – Vol. 78, No. 3. – P. 721-728.*
17. *Lundberg S.M., Lee S.I. A unified approach to interpreting model predictions // Advances in Neural Information Processing Systems. – 2017. – Vol. 30. – P. 4765-4774.*

✶ ✶ ✶

ОТ КИШЕЧНИКА К МОЗГУ: МУЛЬТИСИСТЕМНОЕ ВЛИЯНИЕ МИКРОБИОМА НА ЗДОРОВЬЕ

Данилова Т.И.
Национальный институт организации медицинской деятельности, Москва

Аннотация. *Микробиом человека (МБ) — сложная и динамичная экосистема, которая влияет на развитие костной ткани, формирование мозговых структур, метаболические пути, иммунный гомеостаз и нейрохимические процессы. Нарушения его состава (дисбиоз) тесно связаны с патогенезом широкого спектра состояний: метаболических нарушений (ожирение, инсулинорезистентность, диабет 2-го типа), аутоиммунных расстройств, депрессивных и тревожных состояний, заболеваний сердечно-сосудистой системы (атеросклероз, гипертония), воспалительных патологий ЖКТ (болезнь Крона, язвенный колит), хронических воспалительных заболеваний кожи (атопический дерматит, псориаз, розацеа, себорейный дерматит, акне). МБ модулирует реакцию организма на лекарства, что важно учитывать при разработке персонализированных терапевтических стратегий. Накапливаются данные о его роли в канцерогенезе: механизмы включают прямое воздействие микробных метаболитов на клетки, опосредованное — через иммунную систему и системное воспаление. Короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК), продуцируемые МБ, могут проникать в кровоток, влиять на микроокружение костного мозга, модулируя дифференцировку гемопоэтических стволовых клеток, и потенциально сказываться на процессах кроветворения и развитии опухолей. Кроме того, микробиота (МК) участвует в метаболизме канцерогенных веществ и активации промутагенов. «Золотым стандартом» для анализа состава МБ остаётся секвенирование гена 16S рРНК, позволяющее точно идентифицировать бактериальные сообщества. Для выявления сложных взаимосвязей и построения прогностических моделей всё чаще применяют инструменты искусственного интеллекта, в частности mGPS.*

Ключевые слова*: микробиом, дисбиоз, ось «микробиота-кишечник-мозг», метаболиты, иммунный гомеостаз, нейротрансмиттеры, персонализированная медицина.*

Введение. Кишечник человека — не просто орган пищеварения, а сложная экосистема, населённая триллионами микроорганизмов: бактериями, вирусами, грибками и простейшими. Геном этого микробного сообщества содержит в десятки и сотни раз больше генетической информации, чем геном человека. Благодаря прорывам в метагеномике и высокопроизводительном секвенировании учёные детально изучили состав и функции микробиоты, раскрыв её многогранное влияние на физиологические процессы [17].

МК выполняет ключевые функции: участвует в пищеварении (расщепляет клетчатку, которую человеческие ферменты не способны переварить), синтезирует витамины (группы В, К), поддерживает барьерную функцию кишечника и защищает от патогенов. Она активно взаимодействует с иммунной системой, «обучая» её различать «своё» и «чужое», и влияет на нервную систему через ось «кишечник — мозг». Эта двунаправленная связь реализуется через блуждающий нерв, иммунные механизмы, гормональные сигналы и метаболиты кишечных бактерий. Дисбаланс МК (дисбиоз) ассоциирован с развитием широкого спектра заболеваний — от патологий ЖКТ, заболеваний кожи

и метаболических нарушений до неврологических расстройств и повышенного риска онкологических заболеваний. В то же время целенаправленная коррекция МК (пробиотики, пребиотики, фекальная трансплантация) открывает новые возможности для профилактики и лечения [4, 7].

Таким образом, МК — активный регулятор гомеостаза, влияющий на все уровни организации организма. Понимание механизмов этого влияния и разработка методов его модуляции лежат в основе перспективных направлений персонализированной медицины.

Цель. Выявить перспективные направления для дальнейших работ по модуляции МБ с целью профилактики и лечения мультисистемных заболеваний.

Материалы и методы.

Культуральные (бактериологические)	Выращивание микроорганизмов на элективных питательных средах. Позволяет изучать биологические свойства выделенных культур. В современной практике применяется ограниченно, в основном для идентификации патогенных и условно-патогенных микроорганизмов.
Молекулярно-генетические	Обнаружение специфических участков ДНК или РНК: ПЦР, секвенирование (включая высокопроизводительное, NGS), флуоресцентная гибридизация in situ (FISH).
Метагеномный анализ	Изучает весь геном сообщества, позволяя оценить не только видовой состав, но и функциональный профиль. Для анализа используется высокопроизводительное параллельное секвенирование.
Метатранскриптомный анализ	Анализирует РНК, то есть изучает транскриптом — совокупность транскриптов (РНК-копий) — и позволяет оценить, какие гены активно работают в микробном сообществе.
Метаболомика	Исследует спектр низкомолекулярных соединений — метаболитов, которые продуцируют микроорганизмы или входят в их состав.
Метапротеомика	Анализирует белки, которые производятся микроорганизмами.
Масс-спектрометрия	Может применяться в разных вариантах: масс-спектрометрия микробных маркеров (МСММ) определяет компоненты клеточных стенок микроорганизмов (жирные кислоты, альдегиды, стеролы); масс-спектрометрия (MALDI-TOF) используется для идентификации микроорганизмов после культивирования.

Результаты и обсуждение. МБ распределён в организме неравномерно: около 90% всех микроорганизмов приходится на кишечную микробиоту, которая и изучена лучше других. Помимо кишечника, существуют МБ кожи, полости рта, урогенитального тракта и других локаций. Термин «микробиом» охватывает не только сообщество

микроорганизмов (бактерий, грибов, вирусов, архей, простейших), но и продукты их жизнедеятельности (метаболиты, сигнальные молекулы, токсины), а также среду их обитания (слизь, эпителиальные клетки, компоненты стромы). Единого определения «здорового» МБ нет из-за его естественной изменчивости: состав сообщества динамически меняется под влиянием питания, инфекций, приёма антибиотиков, смены климата и других факторов [7].

МК считается одной из самых сложных экосистем в природе. В норме её состав формируют шесть филотипов: на долю Bacillota (Firmicutes) и Bacteroidota приходится около 90%, а далее в порядке убывания следуют Actinobacteriota, Verrucomicrobiota, Alphaproteobacteriota (Proteobacteria) и Methanobacteriota (Euryarchaeota) [9].

Исследования МК невозможны без биобанков: сбор и хранение биоматериала гарантируют его качество и объём, а объединение с обширной клинической базой позволяет комплексно изучать, как КМ влияет на здоровье — функционально и с точки зрения патогенеза [6].

Исследования подтверждают: МК — не пассивный обитатель, а активный регулятор. Она напрямую влияет на иммунитет, помогает контролировать вес и энергетический баланс, а её дисбаланс связан с нарушениями, ведущими к ожирению. Кроме того, состав МК и вырабатываемые ею метаболиты ассоциированы с рядом патологий: неалкогольной жировой болезнью печени, воспалительными заболеваниями кишечника (ВЗК), гепатоцеллюлярной карциномой, сердечно-сосудистыми заболеваниями, алкогольной болезнью печени, хроническими заболеваниями почек (рисунок 1) [11].



Рис.1.
Заболевания, ассоциированные с нарушением микробиома [12]

Короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК: ацетат, пропионат, бутират) — ключевые метаболиты кишечной микробиоты, которые не только служат энергетическим субстратом для клеток эпителия, но и регулируют барьерную функцию кишечника и иммунный ответ [3,18].

КЦЖК стимулируют экспрессию белков плотных соединений (окклюдина, клаудина-1), поддерживая целостность эпителиального слоя, и усиливают выработку слизи бокаловидными клетками. Это снижает проницаемость барьера и предотвращает транслокацию патогенов и их токсинов в системный кровоток.

КЦЖК взаимодействуют с рецепторами на иммунных клетках (GPR41, GPR43), тонко настраивая баланс между противовоспалительными и провоспалительными реакциями. Например, бутират подавляет активность гистондеацетилаз (HDAC), обеспечивая эпигенетическое подавление экспрессии провоспалительных цитокинов, включая интерлейкин 6 и интерлейкин 12, тем самым снижая выраженность хронического системного воспаления, что способствует дифференцировке регуляторных Т-клеток (Treg) и поддержанию иммунной [5].

Кроме того, КЦЖК могут подавлять активацию ядерного фактора каппа B (NF-κB), снижая синтез провоспалительных цитокинов. Помимо этого, КЦЖК влияют на метаболизм глюкозы и липидов, чувствительность к инсулину. Ацетат и бутират могут стимулировать секрецию глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1), усиливая чувство насыщения. Пропионат также способствует снижению липогенеза и уровня холестерина [2,3].

МК активно участвует в синтезе нейротрансмиттеров (серотонина, дофамина, ГАМК) и нейротрофических факторов, формируя двунаправленную коммуникационную систему — ось «микробиота — кишечник — мозг». Например, бактерия *Cloacibacillus evryensis* потенциально задействована в производстве ГАМК — нейромедиатора, который снижает тревожность и стресс, регулирует мышечный тонус, поддерживает здоровый сон и улучшает концентрацию внимания. При этом около 50% всей ГАМК в организме вырабатывается именно в кишечнике клетками-продуцентами при участии микробиоты [16]. В исследованиях также отмечают ассоциации: например, повышенное содержание в полости рта бактерии Treponema vincentii ассоциировалось с более низкими показателями психопатии, тогда как у людей с выраженными психопатическими чертами чаще выявляли бактерии родов Allisonella *и* Prevotella. [13].

Кроме того, МК стимулирует выработку энтероэндокринными клетками кишечника гормонов — таких как глюкагоноподобный пептид-1 (ГПП-1) и пептид YY (PYY), — которые регулируют аппетит, энергетический обмен и чувствительность к инсулину [2].

Дисбиоз нарушает баланс МК, повышая проницаемость кишечного барьера. Это приводит к проникновению в кровоток бактериальных токсинов и фрагментов клеточных стенок. Системное воспаление ассоциировано с развитием инсулинорезистентности, сахарного диабета 2-го типа, метаболического синдрома, неалкогольной жировой болезни печени и атеросклероза [4]. Также доказана связь с аутоиммунными патологиями (ревматоидный артрит, аутоиммунный тиреоидит, атопический дерматит, псориаз). Изменённая МК активирует провоспалительные Т-клетки, нарушает функцию регуляторных лимфоцитов и провоцирует молекулярную мимикрию. Дисбиоз может способствовать развитию или усугублению воспалительных заболеваний ЖКТ [14].

Состав МК формируется под влиянием рациона, окружающей среды, возраста, пола и генетических факторов и может существенно воздействовать на нейрофизиологические и иммунные процессы, связанные с депрессией. Эксперименты на животных, выращенных в стерильных условиях, показали, что отсутствие функционального МБ приводит к изменениям в структуре мозга, поведении и эмоциональной регуляции. Отдельные виды микроорганизмов участвуют в синтезе ключевых нейромедиаторов и регулируют воспаление через цитокиновые сигнальные пути. Также есть данные о связи нарушений МБ с нейродегенеративными заболеваниями (болезнь Альцгеймера, Паркинсона) [1,10].

Диета — важный фактор здоровья и контроля заболеваний. Недавние исследования подчёркивают: рацион напрямую формирует структуру МК и через неё влияет на метаболизм хозяина. Среда кишечника создаёт условия для размножения, роста и выживания микробного сообщества. Углеводы служат ключевым источником энергии, а кишечная микробиота осуществляет ферментацию, обеспечивая доставку жизненно важных биомолекул хозяину [8, 11].

МБ влияет на то, как организм реагирует на лекарства: разные штаммы бактерий по-своему их метаболизируют. Одни активируют пролекарства (неактивные предшественники), другие инактивируют активные вещества или меняют профиль побочных эффектов. Учёт индивидуального микробиомного профиля перспективен для персонализированной медицины — так можно повысить эффективность терапии и снизить риски нежелательных реакций.

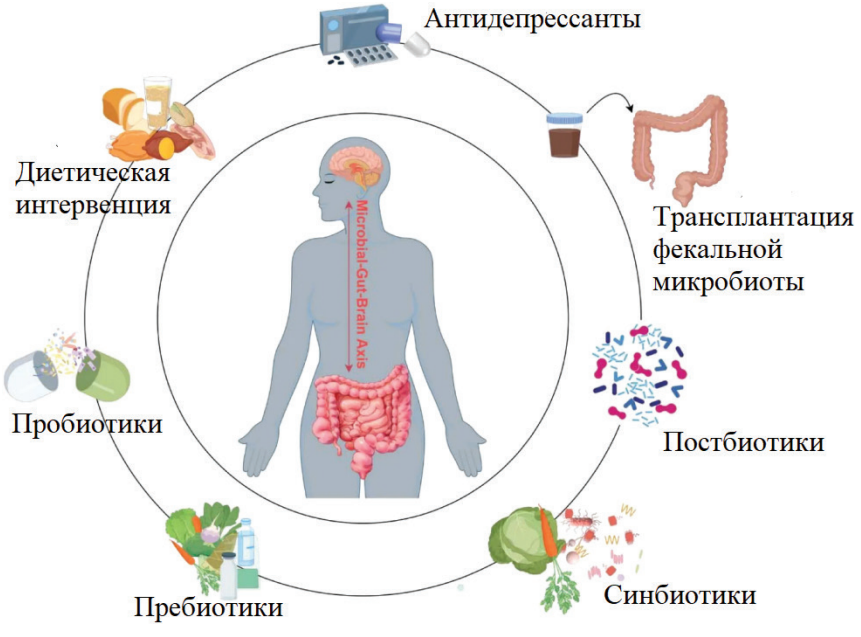
Таргетная терапия в контексте МК направлена на коррекцию дисбаланса кишечной микробиоты как способа снижения выраженности симптомов различных заболеваний, включая депрессию. Диетотерапия, пробиотики, пребиотики, синбиотики, постбиотики и трансплантация фекальной микробиоты (ТФМ) воздействуют на состав и функции кишечных микроорганизмов, влияя на ось «микробиота — кишечник — мозг». Эти стратегии — как по отдельности, так и в комбинации — демонстрируют значительный потенциал в качестве дополнительных методов лечения, открывая новые пути повышения эффективности терапии. (рисунок 2) [15] через цитокиновые сигнальные процессы [10].

На схеме представлены новые стратегии модуляции МК для лечения депрессии. Антидепрессанты, диетотерапия и методы лечения, основанные на МК (в том числе пробиотики, пребиотики, синбиотики, постбиотики и ТФМ), могут влиять на состав и функции кишечных микроорганизмов, потенциально облегчая симптомы депрессии. Эти стратегии — как по отдельности, так и в сочетании друг с другом — демонстрируют значительный потенциал в качестве дополнительных методов лечения депрессии, предлагая новые пути повышения эффективности терапии.

Методы таргетной терапии МК, применяемые отдельно или в комбинации, демонстрируют потенциал как дополнительные способы лечения, повышая эффективность терапии через регуляцию воспалительных и метаболических процессов. При этом «таргетные пробиотики» — это идентифицированные на уровне штамма микроорганизмы с установленными терапевтическими мишенями, подтверждёнными клиническими исследованиями.

Заключение. Таким образом, раскрытие молекулярных механизмов коммуникации микробиома с организмом хозяина формирует фундамент для инновационных подходов в профилактике и терапии мультисистемных патологий, в том числе онкологических и

депрессивных заболеваний. В контексте развития персонифицированной медицины особую значимость приобретает идентификация индивидуальных профилей микробиоты и их корреляций с фенотипическими особенностями пациента. Перспективным направлением исследований видится детализация конкретных сигнальных каскадов, опосредующих влияние микробных сообществ на физиологические и патологические процессы. Это позволит разрабатывать таргетные стратегии модуляции микробиома — от подбора персонализированных пробиотических и пребиотических композиций до применения узкоспецифичных биотерапевтических агентов, направленных на коррекцию дисбиотических состояний и снижение риска развития системных заболеваний.



Ри.2.
Применение микробиоты кишечника в лечении депрессии [15]

Список литературы:

1. *Васильева Е.Ф. Регуляторная роль кишечной микробиоты в воспалении при депрессии и тревоге. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2023;123(11):3339. https://doi.org/10.17116/jnevro202312311133*
2. *Демидова Т.Ю., Лобанова К.Г., Ойноткинова О.Ш. Кишечная микробиота как эндокринный орган. Ожирение и метаболизм. 2020;17(3). С. 299-306. https://doi.org/10.14341/omet12457*

3. *Иванов А.А., Трошина И.А., Голубева Т.И., Михайлов М.С. Короткоцепочечные жирные кислоты: метаболизм, функции и диагностический потенциал при метаболистических нарушениях. Пермский медицинский журнал. 2024. Т. 16, № 6. С. 109-119. DOI: 10.17816/pmj416109%119*
4. *Левкова Е.А., Скворцова Е.А., Дмитриева В.В., Терентьев С.Ю. Особенности микробного пейзажа кожи пациентов с атопическим дерматитом во время обострения и в фазе ремиссии. Адаптивная медицинская иммунология и вопросы общественного здоровья. 2026;2(1):6066. https://doi.org/10.17116/immunology2026201160*
5. *Леонов Г.Е., Вараева Ю.Р., Ливанцова Е.Н., Стародубова А.В. Модуляция уровней триметиламиноксида и короткоцепочечных жирных кислот методами диетотерапии в программах кардиореабилитации. РМЖ. 2025;9:38-42. DOI: 10.32364/2225-2282-2025-9-7.*
6. *Покровская М.С., Борисова А.Л., Яфарова А.А., Шептулина А.Ф., Драпкина О.М. Биобанк кишечной микробиоты человека: принципы организации и перспективы использования в исследовательских и терапевтических целях. Доказательная гастроэнтерология. 2025;14(4):2738. https://doi.org/10.17116/dokgastro20251404127*
7. *Юдина Ю.В., Корсунский А.А., Аминова А.И., Абдуллаева Г.Д., Продеус А.П. Микробиота кишечника как отдельная система организма. Доказательная гастроэнтерология. 2019;8(4):3643. DOI: 10.17116/dokgastro2019804-05136*
8. *Терлецкий В. П., Тыщенко В. И. Влияние питания на состояние микробиоты кишечника. Research Journal of Nutrition. — 2025. — Vol. 1, No. 1. — P. 18–25. — DOI: 10.37842/2712-7536-2025-1-1-18-25*
9. *Яфарова А.А., Дементьева Е.В., Злобовская О.А., Киселев А.Р., Шептулина А.Ф., Ашниев Г.А., Жамалов Л.М., Макаров В.В., Юдин С.М., Драпкина О.М. Кишечная микробиота на различных стадиях сердечно-сосудистого континуума. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2023;22(12):3751. https://doi.org/10.15829/1728-8800-2023-3751*
10. *Abidin Z.Z., Hein Z.M., Nassir C.M.N. et al. Pharmacological modulation of the gut-brain axis: psychobiotics in focus for depression therapy. Pharmacol., 26 September 2025. Sec. Neuropharmacology. V. 16. | https://doi.org/10.3389/fphar.2025.1665419*
11. *Afzaal M., Saeed F., Shah Y/A. et al. Human gut microbiota in health and disease: Unveiling the relationship. Microbiol., 26 September 2022. Sec. Microorganisms in Vertebrate Digestive Systems/ V. 13. | https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.999001*
12. *Baohong W, Mingfei Y, Longxian L, Zongxin L, Lanjuan L. The Human Microbiota in Health and Disease. Engineering. 2017;3(1):71-82. https://doi.org/10.1016/J.ENG.2017.01.008*
13. *Costa C.F.A., Smith D.R., Figueiredo A.R.T et al. Gut and oral microbiota composition is associated with psychopathic personality: a cross-sectional study. Translational Psychiatry. 2026. 16 (1), 117. doi.org*
14. *Engelsberger V., Gerhard M., Mejias-Luque R. Effects of Helicobacter pylori infection on intestinal microbiota, immunity and colorectal cancer risk. Cell. Infect. Microbiol., 26 January 2024. Sec. Intestinal Microbiome. V. 14 - 2024 | https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1339750*

15. *Eslami M., Naderian R., Bahar A. et al. Microbiota as diagnostic biomarkers: advancing early cancer detection and personalized therapeutic approaches through microbiome profiling. Immunol., 08 May 2025. Sec. Microbial Immunology. V. 16 - 2025 | https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1559480*
16. *Ikegami M., Narabayashi H., Nakata K. et a. Intervention in gut microbiota increases intestinal γ-aminobutyric acid and alleviates anxiety behavior: a possible mechanism via the action on intestinal epithelial cells. Cell. Infect. Microbiol., 05 September 2024/ Sec. Intestinal Microbiome. V. 14. | https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1421791*
17. *Salem I., Ramser A., Isham N. et al. The Gut Microbiome as a Major Regulator of the Gut-Skin Axis. Microbiol., 10 July 2018. Sec. Microbial Immunology. V. 9. | https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01459*
18. *Zhan Z., Tang H., Zhang Y. et al. Potential of gut-derived short-chain fatty acids to control enteric pathogens. EW article. Microbiol., 20 September 2022. Sec. Food Microbiology. V. 13 - 2022 | https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.976406*

✶ ✶ ✶

СТРАТЕГИИ ПЕРСОНИФИКАЦИИ ФАРМАКОТЕРАПИИ ПОРТАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ ПРИ ЦИРРОЗЕ ПЕЧЕНИ

Жданова О.А.[1], Батищева Г.А.[1], Лоусон А.Х.[2], Косякова Г.П.[2,3], Русановский В.В.[2]

[1]Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Воронеж,
[2]Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет,
[3]Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Аннотация. *Цирроз печени является итогом прогрессирования хронических заболеваний печени, сопровождается нарушением структуры органа и развитием фиброза. Цель исследования – исследовать тенденции развития фармакотерапии портальной гипертензии у пациентов с циррозом печени. Проведен анализ данных современной литературы о лекарственных препаратах, применяемых в терапии основных клинических синдромов цирроза печени. Основные положения консервативной терапевтической тактики изложены в актуальных консенсусных рекомендациях (Baveno VII 2021, EASL 2022, AASLD 2023). Рассмотрены вопросы фармакопрофилактики кровотечений из варикозно расширенных вен пищевода с применением бета-адреноблокаторов, остановки острых варикозных кровотечений с использованием терлипрессина или октреотида, профилактическая антибактериальная терапия и мероприятия фармакотерапии при асците и печеночной энцефалопатии. Использование фармакотерапевтических мероприятий наряду с хирургической тактикой способствует более точному и индивидуальному подходу в лечении и улучшает прогноз для пациентов.*

Ключевые слова: *портальная гипертензия, цирроз печени, неселективные бета-адреноблокаторы, карведилол, терлипрессин, рифаксимин, фармакотерапия.*

Введение. Цирроз печени является итогом прогрессирования хронических заболеваний печени, сопровождается нарушением структуры органа и развитием фиброза. Распространённость заболевания в мире составляет около 112 случаев на 100 000 человек, ежегодная смертность — более 1,3 миллиона пациентов. Частота развития цирроза растет на фоне эпидемии ожирения и сопутствующей неалкогольной жировой болезни печени [1].

Основное осложнение цирроза — портальная гипертензия, при которой формируется стойкое повышение давления в системе воротной вены с градиентом венозного давления 5 мм рт. ст. и более. Повышение градиента печеночного венозного давления до 12 мм рт. ст. и более сопровождается высоким риском наиболее серьезного осложнения цирроза печени – кровотечения из варикозно расширенных вен пищевода [2].

В последние годы значительно меняются подходы к лечению портальной гипертензии, которые начинают внедряться в клиническую практику.

Цель. Исследовать тенденции развития фармакотерапии портальной гипертензии у пациентов с циррозом печени.

Материалы и методы. Проведен анализ данных современной литературы о лекарственных препаратах, применяемых в терапии основных клинических синдромов цирроза печени: асцита, печеночной энцефалопатии, портальной гипертензии, гепато-

ренального синдрома. Для основного поиска источников использовали интернет-ресурс PubMed, а также базу данных ELIBRARY. Сайты издательств Springer и Elsevier использовались для доступа к полному тексту статей. Ключевые слова поиска: цирроз печени, фармакотерапия, портальная гипертензия, асцит, варикозное расширение вен пищевода, печеночная энцефалопатия.

Результаты и обсуждение. В последние годы фармакотерапия портальной гипертензии претерпела значительные изменения. Основные положения консервативной терапевтической тактики изложены в актуальных консенсусных рекомендациях (Baveno VII 2021, EASL 2022, AASLD 2023) [1-3].

Одним из жизнеугрожающих состояний являются кровотечения из варикозно расширенных вен пищевода. Для профилактики развития указанного состояния скрининговая фиброэзофагогастродуоденоскопия (ФЭГДС) показана всем пациентам при впервые установленном диагнозе цирроза печени. Согласно расширенным критериям Baveno VII, к неинвазивным маркерам риска кровотечения из варикозно расширенных вен пищевода относятся соотношение показателя жесткости печени при эластографии (Liver Stiffness Measured, LSM) и количество тромбоцитов в общем анализе крови. ФЭГДС может не проводиться у пациентов с LSM менее 20 кПа и тромбоцитами более 150×10^9/л из-за крайне низкого риска кровотечения у пациентов данной группы.

При повышении градиента печеночного венозного давления ≥10 мм рт. ст. и отсутствии варикозного расширения вен пищевода (компенсированный цирроз), фармакопрофилактика, согласно исследованию PREDESCI, включает применение бета-адреноблокаторов, способствующее снижению частоты декомпенсации без значимых побочных эффектов [4]. Пропранолол – неселективный бета-адреноблокатор - снижает портальное давление посредством двух механизмов: блокада β_1-адренорецепторов приводит к снижению ЧСС и уменьшению сердечного выброса; блокада β_2-адренорецепторов сопровождается спланхнической вазоконстрикцией и уменьшением притока крови в воротную вену. В отличие от пропранолола карведилол сочетает неселективную блокаду бета-адренорецепторов с блокадой альфа1-адренорецепторов, что способствует двойному снижению портального давления – не только через уменьшение притока крови, но и путем снижения внутрипеченочного сосудистого сопротивления. Начальная доза карведилола составляет 6,25 мг 1 раз в сутки, доза может быть увеличена до 12,5 мг 1 раз в сутки через 1 неделю (поддерживающая доза) до максимальной - 25 мг в сутки в 1 прием [5].

Неселективные бета-адреноблокаторы не следует применять при систолическом артериальном давлении (АД) ниже 90 мм рт. ст., частоте сердечных сокращений (ЧСС) менее 55 ударов в минуту, тяжёлой хронической обструктивной болезни лёгких (ХОБЛ), атриовентрикулярной блокаде II–III степени и периферическом атеросклерозе. При рефрактерном асците необходимо проявлять осторожность вследствие возможного ухудшения гемодинамики. Решение о назначении или продолжении лечения принимается индивидуально, с обязательным контролем АД и функции почек [6].

При остром варикозном кровотечении препаратом выбора является терлипрессин. Терлипрессин представляет собой синтетический аналог антидиуретического гормона (АДГ) и агонист V_1-рецепторов, который приводит к мощной спланхнической вазоконстрикции и снижению портального давления. Он доказал свою эффективность в снижении смертности при остром варикозном кровотечении в рандомизированных контролируемых исследованиях, снижая 6-недельную смертность примерно на 34%. В 2022

году препарат был одобрен FDA для лечения гепаторенального синдрома с быстрым снижением функции почек [7].

Терлипрессин назначается по 2 мг внутривенно болюсно каждые 4 часа в первые 48 часов, затем 1 мг каждые 4 часа еще на протяжении 3 дней. Противопоказания к применению терлипрессина включают: ишемическую болезнь сердца, нарушения ритма, периферический атеросклероз, гипонатриемию менее 130 ммоль/л из-за риска водной интоксикации, беременность.

При отсутствии терлипрессина для снижения спланхнического кровотока и остановки кровотечения может использоваться октреотид – синтетический аналог соматостатина с длительным периодом полувыведения. Режим дозирования препарата включает болюсное введение 50 мкг препарата внутривенно и последующую инфузию 25-50 мкг в час длительностью до 5 дней [8].

Обязательным компонентом терапии является профилактическое применение антимикробных препаратов для предупреждения развития бактериальной инфекции. С учетом преобладающей грамотрицательной и анаэробной микрофлоры рекомендовано применение цефалоспоринов III поколения в сочетании с метронидазолом, монотерапия моксифлоксацином или амоксициллином + клавулановая кислота.

Препарат местного противомикробного действия, оказывающий антибактериальный эффект в просвете кишечника – рифаксимин. Механизм действия: ингибирует ДНК-зависимую РНК полимеразу бактериальных клеток и вызывает их гибель. Рифаксимин снижает образование бактериями аммиака и других токсических соединений, которые в случае тяжелого заболевания печени, сопровождающегося нарушением процесса детоксикации, участвуют в патогенезе и симптоматике печеночной энцефалопатии. Уменьшает повышенную пролиферацию бактерий при синдроме избыточного роста микроорганизмов в кишечнике. Рифаксимин может применяться после эндоскопических методов остановки варикозного кровотечения, для профилактики инфицирования асцитической жидкости [9].

Асцит встречается более чем у 50% больных циррозом печени и значительно ухудшает прогноз заболевания. Основные препараты, которые помогают убрать патологическое накопление жидкости - диуретики. Диуретическая терапия назначается при асците 2 степени и выше, начинается с применения спиронолактона, при его неэффективности добавляются петлевые диуретики. Стоит помнить о том, что диуретики нужно принимать с осторожностью, так как возможно снижение уровня калия, натрия и общего количества жидкости в организме, что может привести к гепаторенальному синдрому и повышению содержания креатинина в крови. Спиронолактон применяется в начальной дозе 100 мг в сутки, при отсутствии ответа через 7 дней доза может быть увеличена до максимальной дозы 400 мг в сутки. Целевая потеря массы тела должна составлять около 500 г в сутки у пациентов без периферических отёков и не более 1000 г в сутки при наличии периферических отеков.

При 3-ей степени асцита проводят эвакуационный парацентез в сочетании с введением 20% раствора альбумина для профилактики постпарацентезной дисфункции кровообращения. В последние годы показано, что долгосрочная инфузия альбумина улучшает прогноз у амбулаторных пациентов с асцитом [10]. При рефрактерном асците изучается применение ингибиторов натрийзависимого переносчика глюкозы 2 типа - эмпаглифлозина, дапаглифлозина.

Основой терапии печеночной энцефалопатии является раннее предупреждение ее развития. Для этого используются лактулоза и орнитин. Лактулоза (осмотическое слабительное средство) - способствует подавлению протеолитических бактерий посредством увеличения количества ацидофильных бактерий и, также уменьшению содержания азотсодержащих токсических веществ. Орнитин (гипоаммониемическое средство) - снижает повышенный уровень аммиака в организме, в частности при заболеваниях печени. Действие препарата реализуется за счет участия в орнитиновом цикле мочевинообразованя Кребса. В качестве дополнительных мероприятий при печеночной энцефалопатии могут применяться пробиотики, содержащие лакто- и бифидобактерии, в том числе Lactobacillus casei, L. plantarum, L. acidophilus, Bifidobacterium longum, Streptococcus salivarius и диета с включением незаменимых аминокислот с разветвленной цепью [11].

Важным в терапии цирроза печени является устранение или компенсация этиологического фактора, вызвавшего развитие данного заболевания.

Важность сочетания фармакотерапии и эндоскопических методов в лечении пациентов с жизнеугрожающим осложнением цирроза печени – острым кровотечением из варикозно расширенных вен пищевода демонстрирует следующий клинический случай.

Пациент, 35 лет, обратился в приёмное отделение стационара в экстренном порядке с жалобами на многократную рвоту с кровью, слабость. При проведении ФЭГДС выявлены варикозно расширенные вены пищевода 3 степени с признаками продолжающегося кровотечения. Проведена эндоскопическая попытка остановки кровотечения. В общем анализе крови гемоглобин 62 г/л.

Пациенту проводилось введение октреотида, переливание эритроцитарной массы до коррекции гемоглобина, гемостатическая терапия (трансфузия свежезамороженной плазмы, транексамовая кислота, этамзилат натрия), антибактериальная терапия (цефтриаксон).

При повторной ФЭГДС выполнено эндоскопическое лигирование варикозных узлов.

Заключение. Цирроз печени - это тяжелое состояние, которое сопровождается нарушениями функции печени и развитием многих патологических состояний, требующих тщательного наблюдения, комплексной фармакологической терапии и хирургического лечения.

Основная причина смертности при циррозе печени: кровотечения, которые не были выявлены и компенсированы своевременно. Фармакотерапия играет важную роль в уменьшении портальной гипертензии, выраженности кровопотери при кровотечениях и других симптомов цирроза печени. Современные подходы к фармакотерапии портальной гипертензии и профилактике кровотечений из варикозно расширенных вен пищевода основаны на рекомендациях международных консенсусов. Использование фармакотерапевтических мероприятий способствует более точному и индивидуальному подходу в лечении и улучшает прогноз для пациентов.

Список литературы:

1. *EASL Clinical Practice Guidelines on prevention and management of bleeding and thrombosis in patients with cirrhosis / European Association for the Study of the Liver. – DOI: 10.1016/j.jhep.2021.09.003 // J Hepatol. – 2022. – Volume 76, № 5. – P. 1151-1184.*

2. *Renewing consensus in portal hypertension / R. de Franchis, J. Bosch, G. Garcia-Tsao [et al.]. - DOI:10.1016/j.jhep.2021.12.022 // J Hepatol. – 2022. – Volume 76, № 4. – P. 959-974.*
3. *AASLD Practice Guidance on risk stratification and management of portal hypertension and varices in cirrhosis / D. E. Kaplan, C. Ripoll, M. Thiele [et al.]. - DOI: 10.1097/HEP.0000000000000647 // Hepatology. – 2024. – Volume 79, № 5. – P. 1180-1211.*
4. *β blockers to prevent decompensation of cirrhosis in patients with clinically significant portal hypertension (PREDESCI): a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial / C. Villanueva, A. Albillos, J. Genescà [et al.]. - DOI: 10.1016/S0140-6736(18)31875-0 // Lancet. – 2019. – Volume 393, № 10181. – P. 1597-1608.*
5. *Clinical Trial: A Multicentre Randomised Controlled Trial of Carvedilol Versus Variceal Band Ligation in Primary Prevention of Variceal Bleeding in Liver Cirrhosis (CALIBRE Trial) / D. Tripathi, K. Handley, L. Holden [et al.]. - DOI: 10.1111/apt.70080 // Aliment Pharmacol Ther. – 2025. – Volume 61, № 11. – 1740-1754.*
6. *Midodrine and Weekly Albumin Therapy in Patients With Cirrhosis and Diuretic Intractable or Recurrent Ascites: A Case-Control Study / G. J. Borah, G. Pande, S. Malakar [et al.]. - DOI: 10.7759/cureus.76988 // Cureus. – 2025. – Volume 17, № 1. – e76988.*
7. *Terlipressin plus albumin for the treatment of type 1 hepatorenal syndrome / F. Wong, S. C. Pappas, M.P. Curry [et al.]. - DOI: 10.1056/NEJMoa2008290 // N Engl J Med. – 2021. – Volume 384, № 9. – P. 818–828.*
8. *Comparison of 2 days versus 5 days of octreotide infusion along with endoscopic therapy in preventing early rebleed from esophageal varices: a randomized clinical study / S. Rengasamy, S. M. Ali, S. C. Sistla [et al.]. – DOI: 10.1097/MEG.0000000000000300 // Eur J Gastroenterol Hepatol. – 2015. – Volume 27, № 4. – P. 386–392.*
9. *Antibiotics for prophylaxis of spontaneous bacterial peritonitis: systematic review & Bayesian network meta-analysis // H. Soni, M. P. Kumar, V. Sharma [et al.]. – DOI: 10.1007/s12072-020-10025-1 // Hepatol Int. – 2020. – Volume 14, № 3. – P. 399–413.*
10. *Long-term albumin administration in decompensated cirrhosis (ANSWER): an open-label randomised trial / P. Caraceni, O. Riggio, P. Angeli [et al.]. - DOI: 10.1016/S0140-6736(18)30840-7 // Lancet. – 2018. – Volume 391, № 10138. – P. 2417-2429.*
11. *Branched-chain amino acids for people with cirrhosis and hepatic encephalopathy / L. Aamann, N. Deshpande, G. Dam [et al.]. - DOI: 10.1002/14651858.CD001939.pub5. // Cochrane Database Syst Rev. – 2026. – Volume 1, № 1. – CD001939.*

✷ ✷ ✷

ВЫЖИВАЕМОСТЬ И МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛЕГКИХ НИЗКО- И ВЫСОКОУСТОЙЧИВЫХ К ГИПОКСИИ МЫШЕЙ ПОСЛЕ ЗАРАЖЕНИЯ ВИРУСОМ ГРИППА A/H1N1

Захарова Е.Т., Ниниашвили Е.М., Васильев В.Б., Новицкая В.В., Торкунова Е.В., Исакова-Сивак И.Н., Петрова Е.С., Колос Е.А., Коржевский Д.Э.

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Аннотация. *Известно, что люди и животные различаются по устойчивости к гипоксии. Цель работы – сравнить выживаемость низкоустойчивых (НУ) и высокоустойчивых (ВУ) к гипоксии мышей линии F1(CBAxC57BL), интраназально инфицированных адаптированным к мышам летальным вирусом гриппа A/California/7/09 (H1N1pdm09), тропным к легким. Методом гиперкапнии были отобраны две экспериментальные группы мышей НУ и ВУ к гипоксии, определена их летальность на 14 день заражения и взяты легкие на гистологию. Оказалось, что выживаемость мышей в обеих группах статистически не отличалась. А гистологическое исследование легких показало, что тяжелее болели мыши ВУ к гипоксии. Что может объяснить отсутствие различий в выживаемости НУ и ВУ к гипоксии мышей, зараженных вирусом гриппа A/H1N1 (LD^{50}).*

Ключевые слова: *вирус гриппа A/California/7/09 (H1N1pdm09), гиперкапния, низко- и высокоустойчивые к гипоксии мыши.*

Введение. Во время пандемии COVID-19 отечественных клиницистов удивляло, что у пациентов, поступавших в реанимацию с одинаковыми медицинскими историями и параметрами (возраст, пол, объем поражения легких, уровень сатурации), получавших одинаковую схему лечения, заболевание могло завершаться как выздоровлением, так и летальным исходом. Американские врачи на большой когорте госпитализированных пациентов с SARS-CoV-2 впервые показали зависимость летальности от дозы вируса, полученного больными [1], что объясняло разное протекание болезни у одняйцовых близнецов: из двух братьев, заразившихся одновременно от одного и того же носителя, один выздоравливал быстро, а другой долго лежал в реанимации на ИВЛ [2]. Согласно современным представлениям, любое патологическое состояние прямо или косвенно связано с гипоксией. Изучение физиологических механизмов гипоксии и адаптации к ней стало одним из ведущих направлений фундаментальной и прикладной медицины [3]. Известно, что люди и животные различаются по устойчивости к гипоксии [3, 4]. Мы предположили, что одним из до сих пор неучтенных прогностических факторов риска у пациентов с Covid-19 и тяжелой вирусной пневмонией, может быть также и индивидуальная устойчивость к гипоксии, определяющая более тяжелое течение болезни у пациентов НУ к гипоксии. Для верификации этой гипотезы мыши линии F1(CBAxC57BL) были разделены на НУ и ВУ к гипоксии животных методом гиперкапнии и заражены летальным вирусом гриппа A/H1N1 (LD^{50}), тропным к легким.

Цель. Сравнить выживаемость и тяжесть болезни мышей с разной чувствительностью к гипоксии, зараженных адаптированным к мышам вирусом гриппа A/California/7/09 (H1N1pdm09) (LD^{50}), по уровню летальности и степени поражения легких.

Материалы и методы. Эксперименты проводились согласно Заключению локального этического комитета ФГБНУ «ИЭМ» № 3/26 от 23.04.2026.

Половозрелые самки мышей линии F1(CBAxC57BL) были разделены по устойчивости к гипоксии методом гиперкапнии на НУ к гипоксии (время жизни в 200 мл герметичном стеклянном сосуде до 20 мин., n=34) и ВУ к гипоксии животных (время жизни более 30 мин., n=15). Время жизни определяли по потере позы и появлению первого агонального дыхания. Мыши, средне устойчивые к гипоксии (время жизни 20-30 мин) в эксперименте не участвовали. Через три недели две экспериментальные группы, НУ (n=8) и ВУ мышей (n=8), были интраназально заражены адаптированным для мышей летальным вирусом гриппа A/California/7/09 (H1N1pdm09), причем, половина мышей каждой группы получала дозы в объёме 50 мкл, содержащие 10^4 $ЭИД_{50}$ либо 10^5 $ЭИД_{50}$. Выживаемость и изменение массы тела животных оценивали на протяжении 14 дней после заражения. Обработка данных проводилась с использованием GraphPad Prism 6. Для сравнения выживаемости мышей в НУ и ВУ группах применяли логарифмический ранговый критерий Мантела–Кокса. Для оценки межгрупповых различий в изменении массы рассчитаны AUC потери массы, которые затем сравнили с помощью U-критерия Манна-Уитни.

На 14 сутки после заражения мышей подвергали эвтаназии и извлекали легкие для гистологического анализа. Образцы тканей фиксировали в 10% растворе формалина, отмывали формалин дистиллированной водой, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и ксилоле, и заливали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 5 мкм изготавливали с использованием ротационного микротома Pfm Rotary 3003 (PFM, Германия) и окрашивали гематоксилином и эозином. Анализ гистологических препаратов осуществляли с помощью микроскопа Leica DM 750 (Leica, Германия), оснащенного цифровой камерой Leica ICC 50 (Leica, Германия). Измерение площади легких осуществляли с помощью программы ImageJ (NIH, США) при увеличении микроскопа x40. Исследовали 3-4 изображения на каждый случай, измеряя общую площадь и площадь легкого, лишенную альвеол, а порой и бронхов. Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Microsoft Excel. Количественные данные по измерению доли площади поражения легкого представлены в виде средней арифметической и ошибки среднего (mean ± SEM). Для проверки соответствия данных нормальному распределению использовали критерий Шапиро-Уилка. Для определения различий между группами использовали t-критерий Стьюдента и U-критерий Манна-Уитни. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. В течение первой недели после заражения наблюдалось снижение массы тела мышей на 15-25% при введении дозы 10^4 $ЭИД_{50}$ и на 20-30% - при введении дозы 10^5 $ЭИД_{50}$ соответственно. При этом статистически значимых отличий в потере массы мышей в НУ и ВУ группах обнаружено не было, как и в ходе анализа данных о выживаемости инфицированных мышей (рис. 1).

Гистологическое исследование тканей легких мышей через 14 суток после заражения вирусом гриппа H1N1 показало, что легкие во всех случаях были сильно поражены. В той, или иной степени в легких наблюдались следующие морфологические изменения: 1. Расширение межальвеолярных перегородок в области сохранившихся альвеол из-за интерстициального воспаления и полнокровия кровеносных микрососудов; уменьшение диаметра альвеол в легких зараженных мышей по сравнению с легкими интактных животных той же линии. 2. Присутствие в периваскулярной и перибронхиальной зонах легких воспалительных инфильтратов. 3. В наиболее пораженной воспалением части легкого разрушение бронхов, десквамация эпителия бронхов, наличие воспалительных инфильтратов в полости бронхов, присутствие пенистых макрофагов, порой нейтрофилов. Для сравнения степени поражения легких у животных разных групп, у каждого животного было проведено измерение площади легкого и наиболее пораженной его части, в которой отсутствовали альвеолы, а порой и бронхи. Количественная оценка степени поражения легких представлена в таблице 1.

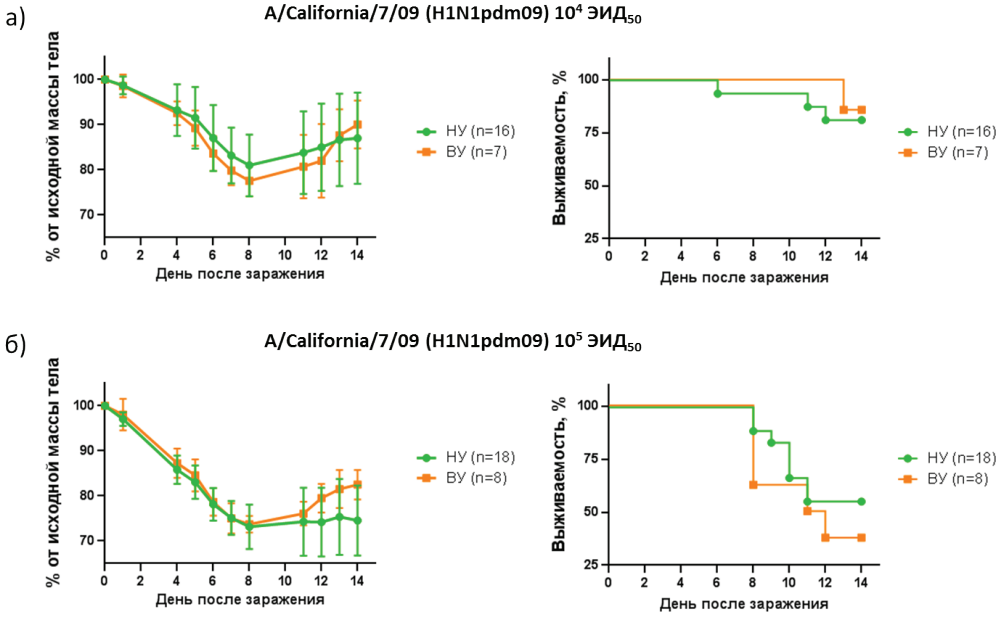


Рис.1.
Изменение массы тела (слева) и выживаемость (справа) НУ и ВУ к гипоксии мышей на протяжении двух недель после интраназального заражения адаптированным для мышей вирусом гриппа A/California/7/09 (H1N1pdm09) в дозе: а) 10^4 ЭИД50 и б) 10^5 ЭИД50

Таблица 1.

Площадь поражения легких НУ и ВУ к гипоксии мышей

Экспериментальная группа	Площадь поражения легких, %
1. НУ мыши (10^4 $ЭИД_{50}$) (n=4)	20,4±4,3
2. ВУ мыши (10^4 $ЭИД_{50}$) (n=4)	60,1±6,8
3. НУ мыши (10^5 $ЭИД_{50}$) (n=4)	45,5±7,7
4. ВУ мыши (10^5 $ЭИД_{50}$) (n=4)	75,6±13,0

$p^{1,2} < 0,05$
$p^{3,4} < 0,05$

При морфологическом сравнении легких двух экспериментальных групп установлено, что у животных ВУ к гипоксии легкие поражены в бóльшей степени, чем у НУ (рис. 2).

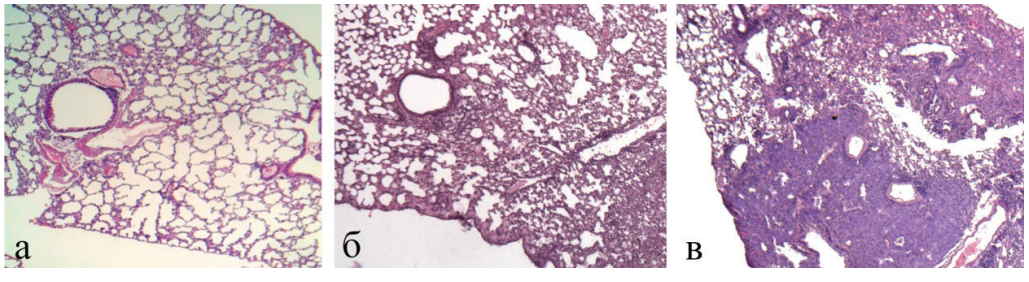


Рис.2.
Фрагменты легких мышей в норме (а) и через 14 суток после заражения вирусом H1N1 (10^4 $ЭИД_{50}$) НУ (б) и ВУ (в) к гипоксии мышей. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: х40

Заключение. Гипотеза о большей уязвимости НУ к гипоксии мышей, инфицированных адаптированным к мышам летальным вирусом гриппа A/H1N1, не подтвердилась - разницы в потере веса и выживаемости зараженных НУ и ВУ мышей линии F1(CBAxC57BL) выявлено не было. Гистологический анализ легких НУ и ВУ мышей, взятых на 14 день заражения, неожиданно показал, что ВУ мыши обладают более обширным поражением легких. Для объяснения большей уязвимости ВУ к гипоксии мышей, инфицированных вирусом гриппа A/N1H1, необходимы дальнейшие исследования.

Выводы.

1. Не обнаружено статистически значимых отличий по выживаемости и потере массы тела в группах НУ и ВУ к гипоксии мышей, инфицированных вирусом гриппа A/California/7/09 (H1N1pdm09).

2. Гистологическое исследование легких у мышей с разной чувствительностью к гипоксии показало, что на 14 день после заражения вирусом гриппа A/California/7/09 (H1N1pdm09), в легких ВУ к гипоксии животных развивается более обширное поражение.

Список литературы:

1. *Pujadas E., Chaudhry F., McBride R., et al. SARS-CoV-2 viral load predicts COVID-19 mortality. Letter. Lancet Respir Med. 2020 Aug 6; 8(9):e70. DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30354-4*
2. *Davide L., Concari P., Moderato L. Simultaneous Covid-19 in Monozygotic Twins. Ann Intern Med. 2021. May; 174(5): 717-719. DOI: 10.7326/L20-1207*
3. *Лукьянова Л.Д. Сигнальные механизмы гипоксии. М.: РАН, 2019. 215 с.*
4. *Джалилова Д.Ш., О.В. Макарова. Устойчивость к гипоксии и системный воспалительный ответ. М.: МДВ, 2022. 199 с.*

* * *

РОЛЬ PCSK9 В РАЗВИТИИ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ И ПРИМЕНЕНИЕ ИНГИБИТОРОВ PCSK9 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ АТЕРОСКЛЕРОЗА

Захарова Ф.М., Богословская Т.Ю., Мандельштам М.Ю.
Институт экспериментальной медицины,
Санкт-Петербург

Аннотация. *Белок PCSK9 является ключевым регулятором метаболизма холестерина липопротеинов низкой плотности, контролируя количество рецепторов ЛНП на поверхности гепатоцитов. Мутации в гене PCSK9 могут приводить к двум противоположным фенотипам: мутации с усилением функции (GOF) вызывают гиперхолестеринемию и ранний атеросклероз, тогда как мутации с потерей функции (LOF) ассоциированы со снижением уровня холестерина и кардиопротективным эффектом. Понимание молекулярных механизмов действия PCSK9 послужило основой для разработки нового класса гиполипидемических препаратов — ингибиторов PCSK9, включающих моноклональные антитела (алирокумаб, эволокумаб) и малую интерферирующую РНК (инклисиран). В настоящем обзоре обобщены современные данные о генетических вариантах PCSK9, их клиническом значении, а также проанализированы результаты крупных клинических исследований, демонстрирующих высокую эффективность и приемлемый профиль безопасности ингибиторов PCSK9 у пациентов с высоким сердечно-сосудистым риском.*

Ключевые слова: *PCSK9, семейная гиперхолестеринемия, ингибиторы PCSK9, атеросклероз, эволокумаб, алирокумаб, инклисиран.*

Введение. Семейная гиперхолестеринемия (СГ) представляет собой наиболее распространенное моногенное заболевание, характеризующееся значительным повышением уровня холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛНП) в плазме крови, развитием преждевременного атеросклероза и высоким риском сердечно-сосудистых осложнений в молодом возрасте. Частота гетерозиготной СГ в европейских популяциях составляет в среднем 1:200–1:250. В подавляющем большинстве случаев (более 95%) развитие СГ связано с мутациями в трех генах: *LDLR*, *APOB* и *PCSK9* [1].

Открытие гена *PCSK9* в 2003 году стало важнейшим событием в понимании холестеринового гомеостаза [2]. Белок PCSK9, девятый член семейства пропротеинконвертаз, выступает в роли негативного регулятора количества рецепторов ЛНП на поверхности гепатоцитов, опосредуя их лизосомальную деградацию. Мутации в гене *PCSK9* могут приводить к усилению или ослаблению этой функции, что определяет клиническую картину — от тяжелой гиперхолестеринемии до протективного гипохолестеринемического фенотипа [3, 4].

Молекулярные механизмы действия PCSK9. PCSK9 синтезируется в виде неактивного предшественника, который подвергается аутокаталитическому расщеплению в эндоплазматическом ретикулуме. Зрелый белок, состоящий из каталитического и С-концевого доменов, транспортируется через аппарат Гольджи и секретируется в кровоток. Каталитический домен PCSK9 взаимодействует с EGF-A доменом рецептора ЛНП, что препятствует формированию закрытой конформации рецептора и направляет его на лизосомальную деградацию вместо рециркуляции на клеточную поверхность [1, 3].

Помимо классической роли в липидном обмене, PCSK9 участвует в воспалительных процессах. Исследования показывают, что PCSK9 активирует сигнальный путь TLR4/NF-κB, способствуя продукции провоспалительных цитокинов, а также повышает экспрессию скавенджер-рецепторов на макрофагах, усиливая захват окисленных липопротеинов и образование пенистых клеток. Эти данные указывают на то, что PCSK9 служит молекулярным мостом между дислипидемией и сосудистым воспалением [5].

Генетические варианты PCSK9 и их клиническое значение. Ген PCSK9 расположен на хромосоме 1p32.3, состоит из 12 экзонов и кодирует белок из 692 аминокислот [6]. Ген характеризуется высоким полиморфизмом: в базе данных SNP описано около 6897 вариантов нуклеотидной последовательности, однако только 36 из них классифицируются как патогенные или вероятно патогенные. Подавляющее большинство мутаций (88%) представлено миссенс-вариантами.

Мутации с усилением функции (GOF): GOF-мутации приводят к усилению активности PCSK9, ускоренной деградации рецепторов ЛНП и развитию тяжелой гиперхолестеринемии. Эти мутации являются причиной аутосомно-доминантной СГ 3-го типа. Классическим примером служит мутация p.(Ser127Arg), нарушающая регуляцию самого белка PCSK9: мутантный белок теряет способность связываться с частицами ЛНП, которые в норме оказывают ингибирующий эффект на PCSK9, что приводит к неконтролируемой деградации рецептора [7]. Наиболее изученной GOF-мутацией является p.(Asp374Tyr) в каталитическом домене. Данная замена приводит к 10–25-кратному увеличению сродства PCSK9 к домену EGF-A рецептора ЛНП, что ассоциировано с крайне высокими уровнями ХС-ЛНП и тяжелым течением гиперхолестеринемии [7].

Мутации с потерей функции (LOF): LOF-мутации приводят к снижению активности белка, увеличению количества рецепторов ЛНП и снижению уровня ХС-ЛНП в крови. Носители таких мутаций имеют значительно более низкий риск атеросклеротических сердечно-сосудистых заболеваний (АССЗ) [8, 9]. Первыми описанными примерами являются нонсенс-варианты p.(Tyr142Ter) и p.(Cys679Ter), приводящие к преждевременной терминации трансляции и синтезу нефункционального белка. Носители этих мутаций демонстрируют снижение уровня ХС-ЛНП примерно на 40% и снижение частоты ишемической болезни сердца на 88% [1, 3]. Особый интерес представляет мутация p.(Arg46Leu) — один из наиболее частых LOF-вариантов с частотой минорного аллеля до 4,8% во французско-канадской популяции. Несмотря на умеренное снижение ХС-ЛНП (9–15%), этот вариант ассоциирован со значительным снижением частоты ИБС (на 47%) в течение 15-летнего периода наблюдения [1].

Важно отметить, что LOF-мутации могут влиять и на другие метаболические пути. Так, носительство p.(Arg46Leu) связано с повышенным риском сахарного диабета и жирового гепатоза. Мета-регрессионный анализ показал, что повышение риска диабета и снижение риска атеросклеротических сердечно-сосудистых заболеваний (АССЗ) положительно коррелируют с падением уровня ХС-ЛНП [1].

Ингибиторы PCSK9: от генетики к терапии. Открытие LOF-мутаций, обеспечивающих естественную защиту от атеросклероза, послужило убедительным доказательством концепции, согласно которой длительное снижение активности PCSK9 безопасно и эффективно для профилактики АССЗ. Это привело к разработке двух основных классов ингибиторов PCSK9: моноклональных антител и малых интерферирующих РНК.

Моноклональные антитела: алирокумаб и эволокумаб. Алирокумаб и эволокумаб представляют собой полностью человеческие моноклональные антитела, которые связывают циркулирующий PCSK9 в сайте, перекрывающемся с участком взаимодействия с рецептором ЛНП, предотвращая связывание PCSK9 с рецептором [10]. Это приводит к увеличению количества рецепторов ЛНП на поверхности гепатоцитов и значительному снижению уровня ХС-ЛНП на фоне статиновой терапии вплоть до 72% [11]. Клинические исследования подтвердили высокую эффективность данной терапии. В исследовании FOURIER (27 564 пациента) эволокумаб на фоне терапии статинами снизил уровень ХС-ЛНП на 59% (до среднего значения 30 мг/дл), а риск первичной комбинированной конечной точки (сердечно-сосудистая смерть, инфаркт миокарда, инсульт, госпитализация по поводу нестабильной стенокардии или коронарная реваскуляризация) — на 15% [12, 13]. В исследовании ODYSSEY OUTCOMES (18 924 пациента с острым коронарным синдромом) алирокумаб продемонстрировал снижение ХС-ЛНП на 57% и снижение риска сердечно-сосудистых событий на 15% [14]. Важным дополнительным эффектом моноклональных антител к PCSK9 является снижение уровня липопротеина(а): эволокумаб снижает Lp(a) в среднем на 26,9%, а алирокумаб — на 23% [15].

Малые интерферирующие РНК: инклисиран. Инклисиран представляет собой малую интерферирующую РНК, направляющую мРНК PCSK9 на деградацию. Препарат вводится подкожно один раз в 6 месяцев, что обеспечивает длительный контроль уровня ХС-ЛНП [16]. Результаты исследования ORION-8 показали, что среднее снижение ХС-ЛНП от исходного уровня до конца исследования составило 49,4%, при этом 78,4% пациентов достигли целевых уровней ХС-ЛНП. Неблагоприятные явления в месте инъекции (легкой или средней степени тяжести) возникли лишь у 5,9% пациентов [17]. Метаанализ, обобщивший данные клинических исследований ORION, показал значительные различия в эффективности инклисирана при разных формах СГ: при гетерозиготной форме снижение ХС-ЛНП составило 48,62%, тогда как при гомозиготной — только 9,12% [18]. Этот результат объясняется тем, что при гомозиготной СГ, обусловленной мутациями в гене *LDLR*, мишень для инклисирана (синтез PCSK9) остается доступной, но снижение активности PCSK9 не может компенсировать полное отсутствие функциональных рецепторов ЛНП.

Перспективные подходы: редактирование генома. Одним из наиболее инновационных направлений является разработка препаратов для постоянного выключения гена *PCSK9* с помощью технологий редактирования генома. Препарат VERVE-101 (Verve Therapeutics) представляет собой первую терапию на основе технологии редактирования оснований (base editing), введенную человеку для лечения АССЗ. Препарат доставляется в гепатоциты с помощью липидных наночастиц и осуществляет точечную замену аденина на гуанин в гене PCSK9, создавая стоп-кодон и пожизненно инактивируя ген [19].

Промежуточные результаты 1-й фазы у 10 участников показали снижение уровня ХС-ЛНП на 55% у пациентов, получавших самую высокую дозу (0,6 мг/кг), при этом эффект сохранялся в течение 6 месяцев [19]. Однако программа разработки столкнулась с проблемами безопасности: у одного пациента произошла остановка сердца (нефатальная), а у другого наблюдалось бессимптомное повышение уровня аланинаминотрансферазы и тромбоцитопения. В апреле 2025 года компания приостановила набор новых пациентов в исследование и сместила фокус на препарат VERVE-102 с новой липидной наночастицей, обеспечивающей более точную доставку в клетки печени [19].

Безопасность ингибиторов PCSK9. Анализ исследований по влиянию терапевтических подходов, основанных на уменьшении активности PCSK9, показал положительные эффекты в отношении венозных тромбоэмболических событий (31% снижение относительного риска) и прогрессирования аортального стеноза [1]. Профиль безопасности ингибиторов PCSK9 в целом благоприятный. Наиболее частым побочным эффектом являются реакции в месте инъекции. Мета-анализ 39 рандомизированных клинических исследований не выявил ассоциации между применением алирокумаба или эволокумаба и развитием нового диабета [20]. Также определенные опасения вызывают возможные респираторные эффекты [1]. Однако данные генетических исследований о связи LOF-вариантов PCSK9 с повышением риска диабета требуют дальнейшего мониторинга в клинической практике.

Заключение. PCSK9 является ключевым регулятором холестеринового гомеостаза, контролирующим количество рецепторов ЛНП на поверхности клеток. Мутации в гене PCSK9 с усилением функции, хотя и встречаются редко (около 1% случаев СГ), обусловливают тяжелые фенотипы гиперхолестеринемии и раннего атеросклероза. Напротив, мутации с потерей функции демонстрируют выраженный кардиопротективный эффект, что послужило основой для разработки терапевтических ингибиторов PCSK9.

Современные ингибиторы PCSK9 — моноклональные антитела (эволокумаб, алирокумаб) и малая интерферирующая РНК (инклисиран) — представляют собой высокоэффективные средства для снижения ХС-ЛНП и риска сердечно-сосудистых осложнений, особенно у пациентов с семейной гиперхолестеринемией и высоким сердечно-сосудистым риском. Разработка препаратов на основе технологий редактирования генома открывает новые горизонты для потенциально пожизненного контроля гиперхолестеринемии, хотя вопросы безопасности требуют дальнейшего изучения.

Таким образом, исследование PCSK9 представляет собой один из наиболее успешных примеров трансляционной медицины, где фундаментальные генетические открытия привели к созданию новых классов препаратов, существенно расширивших возможности терапии дислипидемий и снижения сердечно-сосудистого риска.

Работа выполнена в рамках ГЗ № FGWG-2025-0021.

Список литературы:

1. *PCSK9 and lipid metabolism: genetic variants, current therapies, and cardiovascular outcomes / Grejtakova D et al. // Cardiovasc Drugs Ther. 2025. V. 39. P. 1439–1451.*
2. *Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia / Abifadel M et al. // Nat Genet. 2003. V. 34. N. 2. P. 154-156.*
3. *Seidah NG, Prat A. The multifaceted biology of PCSK9 // Endocr Rev. 2021. V. 43. N. 3. P. 558-582.*
4. *Мандельштам М.Ю., Васильев В.Б. Моногенные гиперхолестеринемии: новые гены, новые мишени для лечения // Генетика. 2008. Т. 44. № 10. С. 1309-1316.*
5. *PCSK9 molecular bridge between hyperlipidemia and vascular inflammation: novel insights into PCSK9-centered pathways in atherosclerosis: a comprehensive review / Muhammad A et al. // Beni-Suef Univ J Basic Appl Sci. 2025. V. 14:105*
6. *The secretory proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase 1 (NARC-1): liver regeneration and neuronal differentiation / Seidah NG et al. // Proc Natl Acad Sci USA. 2003. V. 100. N. 3. P. 928-933.*

7. *PCSK9-D374Y mediated LDL-R degradation can be functionally inhibited by EGF-A and truncated EGF-A peptides: An in vitro study / Valenti V et al. // Atherosclerosis. 2020. V. 292. P. 209-214.*
8. *A spectrum of PCSK9 alleles contributes to plasma levels of low-density lipoprotein cholesterol / Kotowski IK et al. // Am J Hum Genet. 2006. V. 78. N. 3. P. 410-422.*
9. *Relation of PCSK9 mutations to serum low-density lipoprotein cholesterol in childhood and adulthood (from The Bogalusa Heart Study) / Hallman DM et al. // Am J Cardiol. 2007. V. 100. N. 1. P. 69-72.*
10. *A proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 neutralizing antibody reduces serum cholesterol in mice and nonhuman primates / Chan JC et al. // Proc Natl Acad Sci U S A. 2009. V. 106. N. 24. P. 9820-9825.*
11. *Targeting PCSK9 to tackle cardiovascular disease / Hummelgaard S et al. // Pharmacol Ther. 2023. V. 249:108480.*
12. *Evolocumab and clinical outcomes in patients with cardiovascular disease / Sabatine MS et al. // N Engl J Med. 2017. V. 376. N. 18. P. 1713-1722.*
13. *Cardiovascular safety and efficacy of the PCSK9 inhibitor evolocumab in patients with and without diabetes and the effect of evolocumab on glycaemia and risk of new-onset diabetes: a prespecified analysis of the FOURIER randomised controlled trial / Sabatine MS et al. // Lancet Diabetes Endocrinol. 2017. V. 5. N. 12. P. 941-950.*
14. *Alirocumab and cardiovascular outcomes after acute coronary syndrome / Schwartz GG et al. // N Engl J Med. 2018. V. 379. N. 22. P. 2097-2107.*
15. *Novel targets and strategies addressing residual cardiovascular risk in post-acute coronary syndromes patients / Cancro FP et aal. // Transl Med UniSa. 2024. V. 26. N. 2. P. 99-110.*
16. *Khvorova A. Oligonucleotide Therapeutics - A New Class of Cholesterol-Lowering Drugs // N Engl J Med. 2017. V. 376. N. 1. P. 4-7.*
17. *Inclisiran administration potently and durably lowers LDL-C over an extended-term follow-up: the ORION-8 trial / Wright RS et al. // Cardiovasc Res. 2024. V. 120. N. 12. P. 400-1410.*
18. *Efficacy and outcomes of inclisiran in the management of homozygous and heterozygous familial hypercholesterolemia: a systematic review and meta-analysis / Khan Z et al. // Ann Med Surg (Lond). 2025. V. 87. N. 3. P. 1599-1608.*
19. *Razavi AC, Shapiro MD. The discovery of PCSK9 as a pivotal point in the prevention of cardiovascular disease // Am J Prev Cardiol. 2025. V. 24:101314.*
20. *Efficacy and safety of alirocumab and evolocumab: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials / Guedeney P et al. // Eur Heart J. 2022. V. 43. N. 7. P. e17–25.*

✶ ✶ ✶

ИЗУЧЕНИЕ АНТАГОНИЗМА МИКРООРГАНИЗМОВ РОДА LACTOBACILLUS ПО ОТНОШЕНИИ К ИЗОЛЯТАМ CANDIDA ALBICANS

Зубкова Е.С., Байракова А.Л., Лиханская Е.И., Цой В.И.

Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского, Москва

Аннотация. *Рост резистентности Candida albicans к противогрибковым препаратам определяет актуальность поиска альтернативных подходов, включая использование пробиотических штаммов Lactobacillus. Цель работы — изучение антагонистической активности 9 производственных и перспективных штаммов Lactobacillus в отношении 10 клинических изолятов C. albicans in vitro. Использован метод отсроченного антагонизма на питательной среде MRS агар. Установлена выраженная штаммоспецифичность антагонизма и зависимость от индивидуальных свойств как пробиотического штамма, так и патогенного изолята: зоны задержки роста варьировали от 0 до >50 мм в зависимости от комбинации штамм–изолят. Наибольшую активность показали L. acidophilus К3Ш24, L. delbrueckii subsp. delbrueckii 71 и L. plantarum 8R-A3. Отмечено, что один и тот же штамм может проявлять высокую активность в отношении одних изолятов (до >50 мм) и полное её отсутствие (0 мм) в отношении других. Результаты обосновывают необходимость персонализированного подбора пробиотических штаммов на основе предварительного тестирования против клинического изолята пациента.*

Ключевые слова: *Lactobacillus, антагонизм, Candida albicans, штаммоспецифичность, персонализация.*

Введение. Микроорганизмы рода *Lactobacillus* являются неотъемлемой частью нормальной микробиоты человека, колонизируя ротовую полость, желудочно-кишечный тракт и урогенитальный тракт и обладают иммуномодулирующими, антимикробными и антагонистическими свойствами в отношении условно-патогенных микроорганизмов, включая грибы рода *Candida* [1, 2]. Продукция молочной кислоты, перекиси водорода и бактериоцинов, а также способность к коагрегации и конкурентному вытеснению патогенов рассматриваются как основные механизмы их защитного действия [3, 4]. В условиях роста резистентности *C. albicans* к антимикотическим препаратам [5, 6], пробиотики становятся перспективным инструментом профилактики и лечения кандидоза. Однако, несмотря на обширные исследования, антагонистическая активность лактобацилл изучалась преимущественно на референтных или музейных культурах *C. albicans*. Клинические изоляты, отличающиеся по набору факторов вирулентности, профилю резистентности и метаболическим особенностям, могут демонстрировать различную чувствительность к одним и тем же пробиотическим штаммам. Таким образом, существует научно-практический пробел в понимании того, насколько антагонистическая активность современных пробиотических штаммов зависит от индивидуальных свойств клинического изолята *C. albicans*. Восполнение этого пробела необходимо для разработки алгоритмов персонализированного подбора пробиотиков, что особенно актуально в эру персонализированной медицины. Кроме того, в 2020 г. проведена реклассификация рода *Lactobacillus*, что требует уточнения таксономической принадлежности штаммов в современных исследованиях [7].

Цель. Изучить антагонистическую активность производственных и производственно-перспективных штаммов рода *Lactobacillus* в отношении 10 клинических изолятов *C. albicans*, выделенных от пациентов с различными формами кандидоза, и оценить значимость штамм- и изолят-специфических взаимодействий.

Материалы и методы. В работе использованы 9 штаммов лактобацилл из Государственной коллекции нормальной микрофлоры ФБУН «МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского»: производственные — *L. plantarum* 8R-A3, *L. acidophilus* NK-1, *L. acidophilus* К3Ш24, *L. acidophilus* 100аш, *L. casei* КНМ-12; производственно-перспективные — *Lacticaseibacillus rhamnosus* Р2203, *L. helveticus* Р2205, *L. delbrueckii subsp. delbrueckii* 71, *L. fermentum* К49-2. Выбор штаммов обусловлен их применением в составе пробиотических препаратов, назначаемых для коррекции дисбиозов.

Тест-культуры — 10 клинических изолятов *C. albicans*, идентифицированных стандартными микробиологическими и биохимическими методами. У изолятов оценивали факторы патогенности: образование ростовых трубочек и псевдомицелия, фосфолипазную (на среде Сабуро с желтком) и протеазную (с бычьим сывороточным альбумином) активность, а также чувствительность к антимикотикам диско-диффузионным методом.

Антагонистическую активность определяли методом отсроченного антагонизма согласно МУ 2.3.2.2789-10 «Методические указания по санитарно-эпидемиологической оценке безопасности и функционального потенциала пробиотических микроорганизмов, используемых для производства пищевых продуктов». Штаммы лактобацилл активировали из лиофилизированного состояния на среде MRS, затем четвертый пассаж высевали в виде отдельных бляшек (диаметром не более 10 мм, по 3 бляшки на чашку) на среду MRS агар (Модификация 1) (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск). Инкубировали при 37°С в атмосфере с 5% CO_2 в течение 48 ч. После культивирования чашки помещали в ламинарный бокс и облучали УФ-светом 30 мин для инактивации бактериальных клеток при сохранении их метаболитов в агаре.

Параллельно готовили полужидкий агар (0,7% на мясо-пептонном бульоне), охлаждали до 43°С и вносили 0,2 мл суспензии тест-культуры *C. albicans*, доведенной до оптической плотности, соответствующей 5 МЕ по ОСО 42-28-86-2023 (1,5–5×10^8 КОЕ/мл). Смесь тщательно перемешивали и наслаивали на поверхность чашек с инактивированными бляшками лактобацилл. После застывания (15–20 мин) чашки инкубировали в перевернутом положении при 37°С в течение 24–28 ч. Учет результатов проводили путем измерения диаметра зон задержки роста (в мм) тест-культуры вокруг каждой бляшки. Положительным считали результат при наличии четкой зоны ≥20 мм. Каждый эксперимент выполняли в 5 независимых повторностях.

Статистический анализ. Данные представлены как среднее арифметическое значение зон задержки по результатам 5 повторов. Стандартное отклонение не превышало 15% от среднего.

Результаты и обсуждение. Все клинические изоляты *C. albicans* проявляли чувствительность к нистатину, флюконазолу и клотримаксозолу, но были устойчивы к итраконазолу и кетоконазолу. При оценке факторов патогенности установлено, что 74,5% изолятов формировали ростовые трубочки в течение первых 2 ч инкубации, остальные — через 4–5 ч. Это свидетельствует о высокой способности к начальной ста-

дии адгезии и инвазии. Морфологическая оценка динамики филаментации выявила, что лишь 20% изолятов образовывали псевдомицелий к концу 3-х суток при 37°С, тогда как при комнатной температуре этот процесс завершался через 7 суток. Таким образом, температура является критическим фактором, модулирующим вирулентность in vitro. Фосфолипазная активность (зона опалесценции) отмечена у 20% изолятов, протеазная — у 30%, причем протеазная активность проявлялась нестабильно и исчезала при продлении инкубации, что может указывать на регуляцию экспрессии данных ферментов в зависимости от фазы роста. Наличие факторов патогенности подтверждает инфекционный потенциал изученных изолятов и обосновывает их использование в качестве тест-культур.

Результаты антагонистической активности (средние значения зон задержки, мм) представлены в таблице.

Таблица

Зоны задержки роста клинических изолятов *Candida albicans* под действием штаммов *Lactobacillus* на среде MRS

Candida albicans	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Производственные										
L. plantarum 8R-A3	25	21	0	20	20	16	20	24	30	21
L. acidophilus NK-1	20	14	14	14	21	18	14	16	30	14
L. acidophilus К3Ш24	>40	20	20	20	30	20	30	24	30	30
L. acidophilus 100аш	>50	14	0	20	30	0	24	24	30	24
L. casei КНМ-12	20	14	0	0	16	14	14	18	30	14
Производственно-перспективные										
Lacticaseibacillus rhamnosus P2203	30	18	12	16	18	16	20	22	32	20
L. helveticus P2205	24	0	0	0	22	0	14	16	26	20
L. delbrueckii subsp. delbrueckii 71	31	16	22	24	28	>50	>50	>50	>50	>50
L. fermentum К49-2	22	14	15	15	25	24	12	24	30	14

Установлено, что антагонистическая активность лактобацилл носит выраженный штамм- и изолят-специфичный характер. Наиболее эффективными в отношении большинства клинических изолятов оказались штаммы *L. acidophilus* К3Ш24, *L. delbrueckii subsp. delbrueckii* 71 и *L. plantarum* 8R-A3. Однако даже эти штаммы демонстрировали низкую активность против отдельных изолятов. Например, *L. delbrueckii subsp. delbrueckii* 71 имел низкую антагонистическую активность в отношении изолята №2, а штамм *L. plantarum* 8R-A3 – в отношении изолята №3 не имел антагонистическую активность, а в отношении изолята №6 проявил слабовыраженный антагонизм. Два штамма, *L. casei* КНМ-12, *L. acidophilus* NK-1, часто не подавляли рост тест-культур, что указывает на ограниченность их применения при кандидозе, но и они имели высокую антагонистическую активность против изолятов *Candida albicans* №№ 1, 9 и 1, 5, 9 соот-

ветственно. Результаты нашего исследования однозначно указывает на изолят-зависимый характер антагонизма и не позволяет экстраполировать результаты, полученные на одном клиническом изоляте, на всех пациентов

Выявленная штаммоспецифичность и изолят-зависимость антагонизма согласуются с современными представлениями о сложных механизмах межмикробных взаимодействий. Продукция органических кислот (молочной, уксусной) является неспецифическим фактором, но их концентрация и буферная емкость среды могут варьировать. Бактериоцины (платарицин, рейтерин, лактоцин, гельвецитин, бревицин) обладают узкой мишенью и действуют избирательно в отношении определенных штаммов, что объясняет различия в активности [8]. Кроме того, роль играет способность лактобацилл к коагрегации с клетками *Candida* и конкурентному ингибированию адгезии, что зависит от специфических поверхностных белков и липотейхоевых кислот [4].

Интересно, что высокая антагонистическая активность не всегда коррелировала с наличием факторов патогенности у изолята. Например, изолят №9, обладавший фосфолипазной активностью, эффективно подавлялся большинством штаммов, тогда как изолят №2, не продуцировавший ферменты, был резистентен к *L. delbrueckii subsp. delbrueckii* 71. Это предполагает, что устойчивость к антагонистам обусловлена другими механизмами, возможно, особенностями строения клеточной стенки или активностью эффлюкс-насосов, удаляющих бактериальные метаболиты [9].

Практическое значение полученных результатов трудно переоценить. В клинической практике пробиотики часто назначаются эмпирически, без учета чувствительности конкретного патогена. Наши данные показывают, что такая стратегия может быть неэффективной в значительной доле случаев. Персонализированный подход, предполагающий предварительное выделение возбудителя и тестирование панели из 5–7 пробиотических штаммов, позволит выбрать оптимальный вариант и повысить эффективность терапии, особенно в условиях растущей резистентности к антимикотикам. Это также открывает перспективы для создания мультиштаммовых пробиотических композиций, подобранных эмпирически для наиболее распространенных генотипов *C. albicans*.

Заключение. Проведенное исследование продемонстрировало, что антагонистическая активность лактобацилл в отношении *C. albicans* является высокоспецифичным свойством, определяемым на уровне как пробиотического штамма, так и клинического изолята. Наиболее эффективными оказались штаммы *L. acidophilus* К3Ш24, *L. delbrueckii subsp. delbrueckii* 71 и *L. plantarum* 8R-A3, однако даже они не были универсальными. Полученные результаты обосновывают необходимость перехода от эмпирического назначения пробиотиков к персонализированной стратегии, основанной на in vitro-тестировании. Внедрение такого подхода в клиническую практику требует разработки стандартизированных протоколов и создания доступных панелей пробиотических штаммов для рутинного микробиологического анализа.

Выводы.

1. Антагонистическая активность лактобацилл в отношении клинических изолятов *C. albicans* носит выраженный штаммоспецифичный и изолят-зависимый характер, что подтверждено вариацией зон задержки от 0 до >50 мм.

2. Наибольшую активность продемонстрировали штаммы *L. acidophilus* К3Ш24, *L. delbrueckii subsp. delbrueckii* 71 и *L. plantarum* 8R-A3.

3. Эмпирическое назначение пробиотиков без предварительного тестирования имеет высокий риск неэффективности, так как даже активный штамм может быть бесполезен против конкретного изолята.

4. Персонализированный подбор пробиотического штамма на основе *in vitro*-тестирования против клинического изолята *C. albicans* является научно-обоснованным подходом, повышающим эффективность профилактики и терапии кандидоза, особенно у пациентов с рецидивирующими формами и резистентностью к антимикотикам.

Список литературы:

1. *Ji H.F., Li M., Han X. et al. Lactobacilli-Mediated Regulation of the Microbial-Immune Axis: A Review of Key Mechanisms, Influencing Factors, and Application Prospects. Foods. 2025;14(10):1763. DOI: 10.3390/foods14101763.*
2. *Garbacz K. Anticancer activity of lactic acid bacteria. Semin Cancer Biol. 2022;86(Pt 3):356-366. DOI: 10.1016/j.semcancer.2021.12.013.*
3. *Шаповал О.Г. Оценка антагонистической активности пробиотического производственного штамма лактобацилл в отношении грибов Candida albicans при совместном культивировании на твердой питательной среде. Астраханский медицинский журнал. 2021; 4: 46-51. DOI 10.17021/2021.16.4.46.51.*
4. *Ribeiro F.C., de Barros P.P., Rossoni R.D. et al. Lactobacillus rhamnosus inhibits Candida albicans virulence factors in vitro and modulates immune system in Galleria mellonella. J Appl Microbiol. 2017;122(1):201-211. DOI: 10.1111/jam.13324.*
5. *Popp C., Ramírez-Zavala B., Schwanfelder S. et al. Evolution of Fluconazole-Resistant Candida albicans Strains by Drug-Induced Mating Competence and Parasexual Recombination. mBio. 2019;10(1):e02740-18. DOI: 10.1128/mBio.02740-18.*
6. *Рахматулина, М. Р. Урогенитальный кандидоз: современные представления о видовой структуре заболевания и антимикотической резистентности грибов рода Candida / М. Р. Рахматулина, Э. Н. Тарасенко // Клиническая дерматология и венерология. – 2021. – Т. 20, № 2. – С. 7-14. – DOI 10.17116/klinderma2021200217. – EDN WBWJPH.*
7. *Сорокина, Н. П. Изменение таксономии и номенклатуры видов микроорганизмов рода Lactobacillus. Молочная промышленность. 2020; 7: 40-43. ISSN 1019-8946.*
8. *Рыбальченко О.В., Орлова О. Г., Бондаренко М.В. Антимикробные пептиды лактобацилл. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2013; 4: 89-100. EDN TLNSNZ*
9. *Vazquez-Munoz R., Thompson A., Russell J.T., Sobue T., Zhou Y., Dongari-Bagtzoglou A. Insights From the Lactobacillus johnsonii Genome Suggest the Production of Metabolites With Antibiofilm Activity Against the Pathobiont Candida albicans. Front Microbiol. 2022;13:853762. DOI: 10.3389/fmicb.2022.853762.*

* * *

ВЛИЯНИЕ ДОКСИЦИКЛИНА НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ DANIO RERIO В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПРЕРЫВИСТОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ

Игнатова П.Д., Ереско С.О., Айрапетов М.И., Шабанов П.Д.
Институт экспериментальной медицины,
Санкт-Петербург

Аннотация. *Прерывистое употребление алкоголя сопровождается нейровоспалением, окислительным стрессом и глутаматной эксайтотоксичностью, лежащими в основе стойких эмоциональных, социальных и когнитивных нарушений. Целью работы являлась оценка способности доксициклина корректировать поведенческие последствия прерывистой алкоголизации у Danio rerio. Взрослых особей в течение двух недель ежедневно кратковременно подвергали воздействию раствора этанола, после чего проводили курс коррекции доксициклином в двух дозировках. Поведение оценивали в четырёх тестах на тревожность, социальное взаимодействие, исследовательскую активность с пространственной памятью и реакцию избегания опасности. Показано, что алкоголизация вызывала преимущественно снижение тревожности и ухудшение когнитивных показателей. Действие препаратов носило дозозависимый характер: низкая доза доксициклина частично нормализовала отдельные реакции, тогда как высокая доза доксициклина давала неоднозначные, а местами угнетающие эффекты. Данные обосновывают изучение нейропротекции данного препарата.*

Ключевые слова: *Danio rerio; доксициклин; экспериментальная алкоголизация; нейровоспаление; тревожность; социальное поведение; пространственная память.*

Введение. Злоупотребление алкоголем остаётся одной из ведущих медико-социальных проблем и сопровождается стойкими нарушениями работы центральной нервной системы, затрагивающими эмоциональную сферу, социальное поведение и когнитивные функции. Особое место занимает прерывистое употребление этанола в высоких дозах (binge drinking), при котором повторяющиеся эпизоды интоксикации и последующей отмены выступают самостоятельным повреждающим фактором.

Одним из ключевых звеньев алкоголь-индуцированного повреждения мозга принято считать окислительный стресс: воздействие этанола сопровождается снижением активности антиоксидантных ферментов и накоплением активных форм кислорода, что рассматривается как перспективная мишень нейропротекции [1]. С окислительным стрессом тесно связаны нейровоспаление и глутаматная эксайтотоксичность — избыточная активация NMDA-рецепторов, ведущая к повреждению и гибели нейронов, а также активация микроглии и матриксных металлопротеиназ (ММП).

Для моделирования поведенческих последствий алкоголизации всё шире применяется Danio rerio. Этот вид обладает высоким генетическим и физиологическим сходством с млекопитающими и консервативными нейромедиаторными системами, а его поведенческий репертуар позволяет количественно регистрировать тревожность, социальные реакции и когнитивные показатели [2]. Показано, что воздействие этанола вызывает у Danio rerio долгосрочные изменения поведения [2], при этом социальный контекст

экспозиции способен модулировать выраженность этих эффектов [3], что необходимо учитывать при интерпретации результатов.

Доксициклин — антибиотик тетрациклинового ряда, помимо антимикробной активности обладающий плейотропным действием. В экспериментальных моделях нейровоспаления он снижает уровни провоспалительных цитокинов и ингибирует матриксные металлопротеиназы в ткани мозга, что связывают с его противовоспалительным и нейропротекторным потенциалом [4].

Вместе с тем влияние доксициклина на восстановление отдельных форм поведения — тревожности, социального взаимодействия, исследовательской активности и реакции избегания — после прерывистой алкоголизации остаётся малоизученным. Это определило направление настоящей работы.

Цель. Оценить влияние доксициклина (в дозировках 700 и 1400 мкг/л) на поведенческие параметры Danio rerio — тревожность, социальное взаимодействие, исследовательскую активность с пространственной памятью и реакцию избегания опасности — в условиях экспериментальной прерывистой алкоголизации.

Материалы и методы. Работа выполнена на половозрелых особях Danio rerio. Животных распределяли на группы: контроль, алкоголизация без лечения, а также группы с последующей фармакологической коррекцией доксициклином в дозировках 700 и 1400 мкг/л.

Алкоголизацию моделировали по прерывистой схеме: рыб ежедневно на 20 минут помещали в аквариум с 1 % раствором этанола, после чего на 2–3 минуты переносили в промежуточный аквариум с чистой водой и возвращали в основной. Процедуру повторяли в течение 14 суток. Контрольная группа подвергалась аналогичному переносу, но в аквариум без этанола (эффект переноса). На этапе лечения животных ежедневно на 1 час помещали в растворы препаратов на протяжении 14 суток; контрольную и алкогольную группы подвергали переносу в аквариум без препарата.

Поведение оценивали в четырёх тестах. Тревожность и вертикальное распределение исследовали в аквариуме, разделённом на 12 секторов: протокол включал 30-секундную адаптацию и две видеорегистрации по 1 минуте с 10-минутным интервалом, показателем служило время пребывания в верхнем, среднем и нижнем горизонтальных уровнях. Социальное взаимодействие оценивали в зеркальном тесте: к задней стенке прямоугольного аквариума под углом 45° устанавливали зеркало, регистрируя время пребывания рыбы в четырёх вертикальных секторах (S1–S4), где S1 отражает сближение с «противником», а S4 — его избегание; тест проводили до и после алкоголизации, а также после лечения. Исследовательскую активность и пространственную память изучали в лабиринте с тремя коридорами, стартовым боксом и боксом «с наградой» (пять рыб, не участвующих в эксперименте): после 30-секундной адаптации проводили 10-минутную видеосъёмку перемещений. Реакцию избегания опасности оценивали в тесте «чёрно-белая камера» (аквариум 30×15×15 см, разделённый дверцей): после захода рыбы в чёрную камеру перед ней сбрасывали груз массой 45 г, вызывая реакцию бегства; регистрировали время достижения тёмной зоны после открытия дверцы (BL) и время возвращения в неё после первого и второго сбросов груза (T1 и T2). Результаты представлены как относительные изменения показателей; формальный статистический анализ в рамках настоящей работы не проводился, что учитывалось при интерпретации.

Результаты и обсуждение. Тревожность. До воздействия этанола все группы на первой минуте предпочитали среднюю секцию, а к десятой минуте большинство групп перемещалось в верхнюю. После алкоголизации предпочтение средней секции на первой минуте сохранялось, однако время пребывания в ней возрастало (на 8,2–30,6 %). После курса лечения группа алкоголизации без терапии и группа доксициклина 700 мкг/л смещались в нижнюю секцию (на первой минуте — на 46,1 % и 11,1 % соответственно), что для данного теста интерпретируется как усиление тревожно-фобической реакции. Напротив, группа доксициклина 1400 мкг/л к десятой минуте дольше находилась в верхнем секторе: время пребывания увеличилось на 18,7 % относительно показателя до терапии. По-видимому, высокая доза доксициклина в этом тесте способствовала купированию связанной с отменой алкоголя тревожности и восстановлению исследовательской активности.

Социальное взаимодействие. До алкоголизации животные преимущественно занимали секторы S2 и S3. После воздействия этанола группы к десятой минуте увеличивали время пребывания в секторе S1 (около 24,5–31 %), что можно трактовать как снижение тревожности и повышение готовности к сближению с «противником». Терапия давала разнонаправленный эффект. Доксициклин 700 мкг/л на десятой минуте смещал предпочтение в сектор S4 (около 28,7 %), то есть усиливал избегание — эффект, противоположный действию этанола. Доксициклин 1400 мкг/л, напротив, увеличивал время в секторе S1 (до 40,6 %), воспроизводя и усиливая этанол-подобный паттерн. Таким образом, влияние доксициклина на социальное поведение оказалось дозозависимым и качественно различным для двух доз.

Исследовательская активность и пространственная память. Алкоголизация ухудшала показатели памяти: время пребывания в боксе «с наградой» снижалось на 37,4 % относительно контроля, тогда как время в стартовом боксе возрастало на 247,6 %, а суммарное время в «неправильных» секторах — на 167,9 %. Все препараты частично нормализовали эти показатели. Наиболее выраженную коррекцию пространственной памяти обеспечивал доксициклин 700 мкг/л: время в ошибочном (левом) секторе снижалось на 49,2 %, опускаясь ниже уровня контроля. Высокая доза доксициклина давала смешанный результат: максимально снижала время «замирания» в стартовом боксе (на 17,4 %), но уступала низкой дозе в коррекции памяти.

Реакция избегания опасности. После алкоголизации время достижения тёмной зоны (BL) снижалось во всех группах на 14,5–61 % относительно контроля, что отражает преимущественное снижение тревожности и повышение «смелости». Терапевтические эффекты вновь оказались разнонаправленными. Доксициклин 700 мкг/л проявлял отчётливое противотревожное действие (снижение BL на 66,2 %), однако существенно увеличивал T1 (на 46,2 %), что допустимо связать с замедлением когнитивных и двигательных реакций. Доксициклин 1400 мкг/л оказывал парадоксальный эффект: BL, T1 и T2 возрастали (T2 — на 173,6 %), что, вероятно, свидетельствует о выраженном угнетении нервной системы.

Обобщая, можно отметить, что прерывистая алкоголизация в использованной модели приводила преимущественно к снижению тревожности и ухудшению когнитивных показателей, а действие изученных соединений носило отчётливо дозозависимый и тест-специфичный характер. Низкая доза доксициклина чаще всего частично нормализовала отдельные реакции, тогда как высокая доза доксициклина давала неоднозначные,

а в тесте избегания — угнетающие эффекты. Более высокая концентрация тетрациклина, по-видимому, сопряжена с собственной токсичностью. Полученные результаты имеют описательный характер; для их подтверждения требуются увеличение выборок, формальный статистический анализ и оценка молекулярных коррелятов наблюдаемых поведенческих сдвигов.

Заключение. В работе показано, что алкоголизация смещает поведение в сторону снижения тревожности и ухудшения пространственной памяти, а фармакологическая коррекция способна частично нормализовать отдельные реакции. Ключевым результатом представляется зависимость эффекта доксициклина от дозы и типа теста. Эти данные очерчивают «терапевтическое окно» доксициклина и обосновывают дальнейшее изучение его нейропротекторного потенциала в сочетании с оценкой безопасности.

Выводы.

1. Прерывистая алкоголизация вызывала у Danio rerio преимущественно снижение тревожности (сокращение времени захода в тёмную зону, смещение к «противнику» в зеркальном тесте) и ухудшение пространственной памяти.

2. Доксициклин 1400 мкг/л в тесте вертикального распределения способствовал купированию связанной с отменой алкоголя тревожности и восстановлению исследовательской активности.

3. В зеркальном тесте влияние доксициклина было дозозависимым и качественно противоположным: доза 700 мкг/л усиливала избегание, доза 1400 мкг/л воспроизводила и усиливала этанол-подобный паттерн.

4. В тесте лабиринта препарат частично восстанавливал нарушенное поведение; доксициклин 700 мкг/л наиболее эффективно корректировал пространственную память.

5. В тесте избегания опасности доксициклин 700 мкг/л частично нормализовал тревожность при возможном замедлении реакций, а доксициклин 1400 мкг/л оказывал парадоксальный угнетающий эффект.

6. Эффекты носят дозо- и тест-зависимый характер, что указывает на необходимость подбора дозировок и дальнейшей проверки результатов с применением статистического анализа и молекулярных методов.

Список литературы:

1. *Buján G. E., Serra H. A., Molina S. J., Guelman L. R. Oxidative stress-induced brain damage triggered by voluntary ethanol consumption during adolescence: a potential target for neuroprotection? // Current Pharmaceutical Design. 2019. Vol. 25, no. 45. P. 4782–4790. DOI: 10.2174/1381612825666191209121735.*
2. *Fernandes Y., Gerlai R. Long-term behavioral changes in response to early developmental exposure to ethanol in zebrafish // Alcoholism: Clinical and Experimental Research. 2009. Vol. 33, no. 4. P. 601–609. DOI: 10.1111/j.1530-0277.2008.00874.x.*
3. *Dean R., Hurst Radke N., Velupillai N., Franczak B. C., Hamilton T. J. Vision of conspecifics decreases the effectiveness of ethanol on zebrafish behaviour // PeerJ. 2021. Vol. 9. Article e10566. DOI: 10.7717/peerj.10566.*
4. *Er A., Coskun D., Bahcivan E., Dik B. Effect of doxycycline and meloxicam on cytokines, brain-derived neurotrophic factor, matrix metalloproteinase-3, tissue inhibitor of metalloproteinase-3 and cyclooxygenase-2 in brain // Iranian Journal of Basic Medical Sciences. 2020. Vol. 23, no. 10. P. 1328–1334. DOI: 10.22038/ijbms.2020.45193.10527.*

СОВРЕМЕННЫЕ СТРАТЕГИИ ДИЗАЙНА И КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ ПРИ ИНФЕКЦИЯХ, ВЫЗВАННЫХ РЕЗИСТЕНТНЫМИ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫМИ БАКТЕРИЯМИ

Калганов И.С.
АО «ПФК Обновление»,
Новосибирск

***Аннотация**. Антимикробные пептиды (АМП) рассматриваются как одна из наиболее перспективных альтернатив классическим антибиотикам в условиях нарастающей глобальной резистентности. Их ключевые преимущества — множественный механизм действия, низкая частота развития устойчивости и иммуномодулирующий потенциал — обусловливают активное изучение этих молекул в доклинических и клинических исследованиях. В данном обзоре систематизированы современные стратегии дизайна АМП, включая модификации аминокислотного состава, циклизацию, создание пептидомиметиков и гибридных конструкций. Проанализированы данные по препаратам, активным в отношении MRSA, VRE и пенициллин-резистентных пневмококков, с акцентом на молекулы, достигшие II–III фазы клинических испытаний (даптомицин, оритаванцин, телаванцин). Обсуждаются основные препятствия клинического применения — протеолитическая нестабильность, нефротоксичность, отсутствие пероральных форм и высокая стоимость синтеза, а также перспективные подходы к их преодолению. Несмотря на существующие ограничения, АМП уже заняли нишу препаратов резерва и в обозримом будущем могут стать основой этиотропной терапии тяжёлых нозокомиальных инфекций.*

***Ключевые слова:** антимикробные пептиды, MRSA, VRE, клинические испытания, пептидомиметики, даптомицин, антибиотикорезистентность.*

Введение. Проблема антибиотикорезистентности давно перестала быть сугубо академической и превратилась в реальную угрозу для системы здравоохранения. По данным ВОЗ, частота выделения метициллин-резистентного *Staphylococcus aureus* (MRSA) в отделениях интенсивной терапии сохраняется на критическом уровне, а распространённость ванкомицин-резистентных энтерококков (VRE) неуклонно растёт [1]. При этом темпы разработки новых классов антибиотиков остаются крайне низкими, что создаёт так называемую «инновационную яму» в противомикробной фармакотерапии [2].

В сложившихся условиях АМП — древнейшие молекулы врождённого иммунитета — привлекают всё более пристальное внимание. Их преимущества очевидны: быстрый бактерицидный эффект, множественные мишени в бактериальной клетке и низкая частота селекции резистентных мутантов, что выгодно отличает их от классических антибиотиков [3]. Кроме того, многие АМП обладают иммуномодулирующей активностью, что приобретает особую значимость при лечении септических состояний. Таким образом, поиск эффективных терапевтических стратегий на основе АМП является одной из наиболее насущных задач современной медицины.

Цель. Систематизировать современные данные о дизайне, доклиническом изучении и результатах клинических испытаний АМП, активных в отношении резистентных

грамположительных микроорганизмов, а также выделить основные препятствия на пути их клинической трансляции и оценить возможные пути их преодоления.

Материалы и методы. Для достижения поставленной цели проведён аналитический обзор литературы (2000–2026 гг.) в базах PubMed, Google Scholar и eLIBRARY.ru. Критериями включения служили оригинальные исследования и систематические обзоры, посвящённые дизайну, механизмам действия и клиническому применению АМП. Было отобрано и оценено 15 источников.

Результаты и обсуждение. Обращаясь к структурной организации АМП, следует подчеркнуть, что их классификация базируется на особенностях вторичной структуры, что во многом определяет биологическую активность. Традиционно выделяют четыре основных класса [4]. α-Спиральные пептиды (цекропины, магайнины, LL-37) характеризуются амфифильной конформацией: гидрофобные и положительно заряженные остатки располагаются на противоположных сторонах спирали, обеспечивая избирательность к анионным мембранам бактерий. β-Складчатые пептиды (дефензины), стабилизированные дисульфидными мостиками, обладают жёсткой упаковкой, что способствует устойчивости к протеолизу. Линейные пептиды с обогащённым составом (индолицидин) в свободном состоянии не имеют фиксированной структуры, однако при контакте с липидным бислоем приобретают упорядоченную конформацию. Циклические пептиды (грамицидин S) демонстрируют существенно более высокую метаболическую стабильность по сравнению с линейными аналогами [5].

Анализируя механизмы антибактериального действия, можно выделить три основных пути, которые часто реализуются одновременно, усиливая общий эффект. Мембраноактивный (порообразующий) механизм заключается в электростатическом взаимодействии катионных пептидов с фосфатидилглицерином и кардиолипином мембраны. По достижении пороговой концентрации формируются трансмембранные поры, что приводит к выходу ионов, падению мембранного потенциала и осмотическому лизису. Внутриклеточный (нелитический) механизм реализуется через проникновение пептидов внутрь клетки без нарушения целостности мембраны – буфорин II связывается с нуклеиновыми кислотами, а пирицидицин ингибирует синтез белка. Особого внимания заслуживает способность некоторых АМП ингибировать D-аланин-лигазу у VRE, нарушая формирование пептидогликана [6]. Иммуномодулирующий механизм связан со способностью эндогенных АМП (LL-37) выступать в роли хемоаттрактантов, стимулировать цитокины и фагоцитоз, что наблюдается даже при суб-МПК концентрациях. Важно, что резистентность к АМП развивается медленнее, чем к классическим антибиотикам: для адаптации бактериям требуется перестройка липидного состава или множественные мутации в регуляторных системах (graSR у S. aureus), что является энергетически затратным процессом [7].

Современные подходы к дизайну пептидов с улучшенными свойствами

Природные АМП, несмотря на их высокую антибактериальную активность in vitro, обладают рядом существенных недостатков, ограничивающих их клиническое применение: быстрый протеолиз (период полувыведения в плазме крови часто не превышает 5–30 минут), выраженный гемолиз эритроцитов и цитотоксичность в отношении клеток почечных канальцев, а также плохая растворимость и склонность к агрегации при физиологических значениях pH и ионной силы [8]. Для преодоления этих ограничений за последние два десятилетия разработано несколько стратегий, каждая из которых имеет свои преимущества и ограничения.

Наиболее изученным подходом является замена L-аминокислот на D-энантиомеры. D-аминокислоты не распознаются большинством протеаз (в частности, трипсином и химотрипсином), что резко снижает скорость ферментативного гидролиза. Например, полная D-замена пептида цекропина А повышает его период полувыведения в сыворотке крови с 10 минут до более чем 8 часов без потери антибактериальной активности [8]. Однако тотальная D-замена может приводить к снижению амфифильности и нарушению правильной укладки молекулы, поэтому чаще используют частичное замещение или введение отдельных D-аминокислот в ключевых позициях, ответственных за взаимодействие с ферментами.

Другой подход – введение неприродных аминокислот, таких как норлейцин, α-аминоизомасляная кислота или β-аминокислоты. Это позволяет точно модулировать гидрофобность и пространственную конфигурацию пептида, что напрямую влияет на селективность в отношении бактериальных мембран. Например, замена лейцина на норлейцин в позиции 5 магайнина-2 снижает гемолитическую активность с 25% до 5% при концентрации 100 мкг/мл, практически не меняя минимальную подавляющую концентрацию (МПК) против MRSA [9]. Введение α-аминоизомасляной кислоты, напротив, увеличивает жёсткость спиральной структуры и повышает активность против грамположительных бактерий на 2–4 порядка за счёт лучшего соответствия гидрофобной поверхности мембраны [10].

Циклизация линейных последовательностей – один из наиболее эффективных методов повышения стабильности. Замыкание пептидной цепи в цикл (через дисульфидный мостик, лактамный мостик или клик-химию) снижает энтропию молекулы и ограничивает конформационную подвижность, что одновременно увеличивает устойчивость к протеазам и повышает аффинность к мишени. Классический пример – циклический пептид грамицидин S, который сохраняет активность в сыворотке крови в течение 24 часов, в то время как его линейный аналог полностью деградирует за 1 час [10]. Современные циклические АМП (например, Bacillus-циклические пептиды) демонстрируют МПК против VRE на уровне 0,25–0,5 мкг/мл, что сопоставимо с ванкомицином.

Еще одним направлением дизайна является создание пептидомиметиков -олигомеров на неполиамидном каркасе (например, ариламидные, карбаматные или сульфонамидные соединения), имитирующих пространственную структуру и распределение зарядов активного пептида, но полностью лишенных пептидных связей. Это особенность делает их практически нечувствительными к протеолизу. Некоторые работы показали, что β-пептиды (собранные из β-аминокислот) сохраняют α-спиральную конформацию и активность против MRSA с МПК 2–4 мкг/мл, но при этом не гемолизируют эритроциты даже в концентрации 200 мкг/мл [11]. В 2024 г. появились сообщения о пептидомиметиках нового поколения на основе олигокарбаматов, которые активны против клинических изолятов MRSA с множественной резистентностью (включая штаммы, устойчивые к даптомицину и линезолиду) и имеют терапевтический индекс (отношение цитотоксичности к активности) > 50, что значительно выше, чем у природных АМП [11].

Присоединение пептидного фрагмента к классическому антибиотику позволяет достичь синергизма и снизить МПК в 4–16 раз по сравнению с монотерапией. Так, конъюгат неомицина с пептидом-транслокатором (неомицин-пептидный конъюгат) показал МПК против MRSA 0,5 мкг/мл, что в 8 раз ниже, чем у свободного неомицина, и при этом не проявлял ототоксичности на клеточных моделях [12]. Синергизм обусловлен

тем, что пептидный фрагмент действует как «молекулярный якорь», увеличивая локальную концентрацию антибиотика на поверхности бактериальной мембраны и облегчая его проникновение через клеточную стенку.

Другим направлением является конъюгация АМП с жирными кислотами (липопептиды). Введение жирно-кислотного хвоста увеличивает гидрофобность молекулы и способствует её более глубокому встраиванию в мембрану, что повышает бактерицидную активность в 2–4 раза и одновременно увеличивает период полувыведения за счёт связывания с сывороточным альбумином. Классический пример – даптомицин, но в последние годы разработаны более эффективные липопептиды, такие как трикалексин, который демонстрирует МПК против MRSA 0,125 мкг/мл и находится на стадии доклинических испытаний [12].

Присоединение полиэтиленгликоля (PEG) к пептидной молекуле также является актуальным методом модификации АМП. PEG-илирование создаёт стерический барьер, защищающий от протеаз и замедляющий почечную фильтрацию – такие АМП демонстрируют период полувыведения до 12–24 часов (против 15–30 минут у немодифицированных) при сохранении > 70% исходной активности. Однако PEG-илирование может снижать аффинность к мембране из-за стерических эффектов, поэтому оптимизация размера PEG-цепи (обычно 2–20 кДа) представляет собой самостоятельную задачу [8].

Таким образом, современные методы дизайна позволяют добиться значительного увеличения терапевтического индекса АМП, приближая их к требованиям для системного применения. Комбинация нескольких подходов (например, D-аминокислоты + циклизация + PEG-илирование) даёт максимальный эффект, однако увеличивает сложность и стоимость синтеза.

Клинические испытания АМП

Среди АМП, успешно прошедших клинические испытания, безусловным лидером является даптомицин – циклический липопептид, одобренный FDA в 2003 году и остающийся «золотым стандартом» против MRSA и VRE [13]. Его механизм многостадиен: в присутствии Ca^{2+} он связывается с фосфатидилглицерином, олигомеризуется, вызывает утечку K^+ и вторично подавляет синтез макромолекул [14]. Даптомицин эффективен при инфекциях кожи, бактериемии и эндокардите, но инактивируется в присутствии сурфактанта, вследствие чего не используется для терапии пневмонии. Оритаванцин и телаванцин – гликопептиды с периодом полувыведения 7–8 сут – вводятся раз в неделю и сравнимы с ванкомицином; оритаванцин активен против VRE (МПК50 0,5 мг/л) [15]. Вместе с тем мета-анализ 2023 года показал, что при нозокомиальной пневмонии пептиды уступают линезолиду (RR 1,32) из-за плохой пенетрации в бронхоальвеолярную жидкость [15].

Несмотря на очевидные успехи, клиническая трансляция АМП сопряжена с рядом серьёзных препятствий. Ключевые барьеры включают быстрый протеолиз, отсутствие эффективных пероральных форм, нефротоксичность и высокую себестоимость синтеза. Для преодоления протеолитической нестабильности применяются PEG-илирование и циклизация пептидных цепей. Отсутствие пероральных форм компенсируется разработкой наночастиц для энтеральной доставки. Нефротоксичность может быть снижена путём уменьшения общего положительного заряда и гидрофобности молекулы. Высокая стоимость производства потенциально решается переходом к рекомбинантным технологиям синтеза. В горизонте 5–7 лет наиболее вероятными трендами остаются

комбинированная терапия, адресная доставка к биоплёнкам, иммуномодуляция и персонализированный подбор пептида на основе данных геномного секвенирования.

Заключение. Антимикробные пептиды представляют собой один из немногих реальных и уже работающих ответов на кризис антибиотикорезистентности среди грамположительных возбудителей. Сегодня они убедительно доказали свою эффективность в качестве препаратов резерва при инфекциях кожи, бактериемии и эндокардите. Современные технологии дизайна позволяют последовательно преодолевать врождённые недостатки природных молекул. Остающиеся проблемы требуют дальнейших исследований, особенно в Российской Федерации, с учётом локальной резистентности.

Выводы. Антимикробные пептиды реализуют три взаимодополняющих механизма действия (мембранный, внутриклеточный и иммуномодулирующий), что обеспечивает быстрый бактерицидный эффект и низкую частоту формирования устойчивости у MRSA, VRE и пенициллин-резистентных пневмококков. Современные подходы к дизайну – D-аминокислоты, циклизация, пептидомиметики, гибридизация и PEG-илирование – позволяют существенно повысить терапевтический индекс при сохранении МПК ≤ 2 мкг/мл. Клинически одобренные АМП (даптомицин, оритаванцин) демонстрируют эффективность, сравнимую с ванкомицином, при инфекциях кожи и бактериемии. Ключевыми препятствиями остаются парентеральный путь, нефротоксичность и высокая себестоимость, однако технологии наночастиц и рекомбинантного синтеза постепенно снижают их значимость. Перспективны комбинированная терапия, адресная доставка и персонализация, что расширит показания в ближайшие годы.

Список литературы:

1. *World Health Organization. GLASS report 2022 [Электронный ресурс]. — Geneva: WHO, 2022. — 120 p. — Режим доступа: http://www.who.int/glass (дата обращения: 12.07.2026).*
2. *Butler M.S., Paterson D.L. Antibiotics in the clinical pipeline in October 2022 // J. Antibiot. — 2023. — Vol. 76. — P. 12–36. — DOI: 10.1038/s41429-022-00591-9.*
3. *Hancock R.E.W., Sahl H.G. Antimicrobial and host-defense peptides as new anti-infective therapeutic strategies // Nat. Biotechnol. — 2006. — Vol. 24. — P. 1551–1557. — DOI: 10.1038/nbt1267.*
4. *Wang G., Li X., Wang Z. APD3: the antimicrobial peptide database // Nucleic Acids Res. — 2016. — Vol. 44, No. D1. — P. D1087–D1093. — DOI: 10.1093/nar/gkv1278.*
5. *Wimley W.C. Describing the mechanism of antimicrobial peptide action with the interfacial activity model // ACS Chem. Biol. — 2010. — Vol. 5. — P. 905–917. — DOI: 10.1021/cb1001558.*
6. *Allen H.K., Trachsel J., Looft T., Casey T.A. Finding alternatives to antibiotics // Ann. N. Y. Acad. Sci. — 2014. — Vol. 1323. — P. 91–100. — DOI: 10.1111/nyas.12468.*
7. *Peschel A., Sahl H.G. The co-evolution of host cationic antimicrobial peptides and microbial resistance // Nat. Rev. Microbiol. — 2006. — Vol. 4. — P. 529–536. — DOI: 10.1038/nrmicro1441.*
8. *Rotem S., Mor A. Antimicrobial peptide mimics for improved therapeutic properties // Biochim. Biophys. Acta. — 2009. — Vol. 1788. — P. 1582–1591. — DOI: 10.1016/j.bbamem.2008.10.020.*

9. *Jiang Z., Vasil A.I., Vasil M.L. Modifying hydrophobicity reduces hemolytic activity of magainin derivatives // Antimicrob. Agents Chemother. — 2008. — Vol. 52. — P. 322–330. — DOI: 10.1128/AAC.00837-07.*
10. *Tam J.P., Lu Y.A., Yang J.L. Antimicrobial peptides with high stability and low toxicity // Peptides. — 2000. — Vol. 21. — P. 1633–1640. — DOI: 10.1016/S0196-9781(00)00313-4.*
11. *O'Neil K.T., DeGrado W.F. The design of peptide-based drugs // Adv. Protein Chem. — 1994. — Vol. 46. — P. 245–288. — DOI: 10.1016/S0065-3233(08)60249-X.*
12. *Findlay B., Zhanel G.G., Schweizer F. Neomycin–peptide conjugates for treatment of MRSA // J. Med. Chem. — 2012. — Vol. 55. — P. 7890–7905. — DOI: 10.1021/jm300942e.*
13. *Taylor S.D., Palmer M. The action mechanism of daptomycin // Bioorg. Med. Chem. — 2016. — Vol. 24. — P. 6253–6268. — DOI: 10.1016/j.bmc.2016.06.026.*
14. *Silverman J.A., Perlmutter N.G., Shapiro H.M. Correlation of daptomycin bactericidal activity and membrane depolarization // Antimicrob. Agents Chemother. — 2003. — Vol. 47. — P. 2538–2544. — DOI: 10.1128/AAC.47.8.2538-2544.2003.*
15. *Zhanel G.G., Karlowsky J.A., Adam H.J. Oritavancin for VRE: in vitro surveillance data // Int. J. Antimicrob. Agents. — 2023. — Vol. 62. — P. 106989. — DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2023.106989.*

✶ ✶ ✶

ВОССТАНОВЛЕНИЕ ТИМУСА ПРИ ОПУХОЛЕВОМ РОСТЕ С ПОМОЩЬЮ СОЛЕЙ ЦИНКА

Киселева Е.П., Трулев А.С., Зеленский Е.А., Кудрявцев И.В., Соколов А.В.
Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Аннотация. *Цель исследования – установить связь между развитием инволюции тимуса и дефицитом цинка при росте перевиваемой опухоли, а также изучить возможность коррекции нарушений в тимусе с помощью перорального приема цинка. У мышей на 21 сут после инокуляции клеток перевиваемой опухоли гепатомы 22а наблюдали снижение массы и клеточности тимуса, подавление пролиферативной активности тимоцитов и усиление их апоптоза, что сопровождалось снижением содержания цинка в сыворотке крови и тимусе. Прием сульфата цинка с питьевой водой в концентрации 22 мкг/мл в течение 21 сут тормозил развитие инволюции тимуса, сохраняя его массу и клеточность, а также нормализовал пролиферативную активность тимоцитов и улучшал показатели апоптоза. При этом повышалась концентрация цинка в сыворотке крови и его содержание в тимусе. Кроме того, прием сульфата цинка нормализовал дефицит железа в сыворотке крови и тимусе. Результаты исследования клинически востребованы и могут послужить основой для разработки новых стратегий по восстановлению функций тимуса у онкологических больных с помощью солей цинка.*

Ключевые слова: *инволюция тимуса, тимопоэз, цинк, железо, гепатома 22а.*

Введение. Тимус — центральный орган иммуногенеза, в котором происходит созревание Т-лимфоцитов. Зрелые лимфоциты выходят из тимуса в кровоток и пополняют пул периферических наивных Т-клеток, поддерживая разнообразие Т-клеточных рецепторов (TCR). Опухолевый рост сопровождается инволюцией тимуса, механизмы развития которой до настоящего времени не установлены [1]. Нарушение тимопоэза приводит к снижению выхода зрелых тимоцитов и обеднению Т-клеточного репертуара у онкологических больных [2]. Это негативно сказывается на формирование иммунного ответа на вновь поступающие антигены. Сохранный тимопоэз поддерживает не только защиту от патогенов, но и ответ на иммунотерапию [3]. Тимус также необходим для устранения лимфопении и восстановления полноценной Т-клеточной защиты у пациентов после проведения лучевой и химиотерапии [4].

Современные методы терапии позволяют существенно продлить жизнь все большему числу онкологических больных и, таким образом, разработка эффективных стратегий для улучшения функций тимуса и сохранения адекватной противоинфекционной защиты является актуальной задачей современной медицины. Для ее решения в эксперименте применяют различные способы: введение ростовых факторов, интерлейкинов, гормонов, стволовых клеток [4].

Но существуют и другие способы. Так, описана возможность коррекции инволюции тимуса у старых мышей с помощью добавления солей цинка в питьевую воду [5]. Подобные эксперименты при опухолевом росте не проводили. Несмотря на то, что старение и опухолевый рост представляют собой разные процессы, дефицит цинка вы-

является в обоих случаях. Опухолевый рост как у людей, так и у экспериментальных животных, сопровождается снижением концентрации цинка в крови [6]. Кроме того, хорошо известно, что пищевой дефицит цинка у животных приводит к развитию инволюции тимуса [7].

Эти факты позволили нам сформулировать гипотезу о том, что инволюция тимуса при опухолевом росте может быть связана с дефицитом цинка и, следовательно, коррекция цинкового статуса будет препятствовать развитию негативных явлений в вилочковой железе.

Цель. Установить связь между развитием инволюции тимуса и дефицитом цинка при росте перевиваемой опухоли, а также изучить возможность коррекции нарушений в тимусе с помощью перорального приема цинка.

Материалы и методы. В работе использовались мыши-самцы линии C3HA весом 16-18 г, полученные из питомника «Рапполово». Клеточная линия гепатомы 22а была получена из коллекции клеточных культур Института цитологии РАН. Клетки культивировали в среде DMEM, с добавлением 10 % фетальной сыворотки. Для получения солидных опухолей мышам подкожно инокулировали в область спины 2×10^5 клеток сингенной гепатомы 22а в объеме 0,2 мл физиологического раствора. Контрольные животные получали инъекцию только физиологического раствора. Все экспериментальные животные находились на стандартной диете и получали сухой комбикорм ПК-120 (Лабораткорм, Москва, Россия), содержащий 22,5 мг цинка на кг. Для изучения действия цинка животные с опухолями получали *ad libitum* питьевую воду с добавлением сульфата цинка (Sigma) в концентрации 22 мкг/мл с первого дня после инокуляции клеток гепатомы 22а в течение 21 сут. Эксперименты с животными проводились в соответствии с требованиями и условиями, изложенными в “Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных”, и приказом Минздрава РФ № 267 от 19.06.03 “Об утверждении правил лабораторной практики”, а также были одобрены Комиссией по этике Института экспериментальной медицины, протокол № 1/21 от 28.01.2021 г.

На 21 сут опухолевого роста животных обескровливали и извлекали тимус. Содержание цинка в сыворотке крови и гомогенатах тимуса определяли с помощью метода атомно-абсорбционной спектрометрии. Образцы растворяли в азотной кислоте и проводили измерение по отношению к стандартным растворам цинка (Sigma-Aldrich) на спектрометре ZEEnit 650P (Analytik Jena, Германия). Концентрацию негемового железа в сыворотке крови, а также его содержание в гомогенатах тимуса определяли колориметрическим методом с использованием хромогенного агента феррозина (Sigma-Aldrich, США) [8].

Пролиферативную активность тимоцитов изучали путем анализа клеточного цикла по окрашиванию тимоцитов ДНК-связывающим реагентом 4’,6-диамино-2- фенилиндолом DAPI (Biolegend, США) [9]. Результаты получали в виде распределения клеток по фазам клеточного цикла. Для каждого из образцов на проточном цитофлуориметре Navios™ (Beckman Coulter, США) анализировали не менее 10 000 одиночных клеток. Данные обрабатывали с помощью программы Kaluza™ версия 2.3 (Beckman Coulter, США) с применением алгоритма Michael H. Fox.

Для исследования апоптоза тимоциты сразу после выделения окрашивали иодидом YO-PRO-1 (Invitrogen, США) и DAPI [10]. С помощью проточного цитофлуориметра анализировали три популяции клеток: неокрашенные — живые клетки; окрашенные YO-PRO-1 — находящиеся в ранней фазе апоптоза; окрашенные DAPI и YO-PRO-1 — в состоянии некроза/поздней фазы апоптоза. Тимоциты фенотипировали с использованием моноклональных антител против CD4 мыши, меченных PE-Cy7 (BD Pharmingen, США), и против CD8, меченных PE-Cy5 (BD Pharmingen), а также соответствующих изотопических контролей.

Статистическую обработку результатов проводили в программе Statistica 13.0 с использованием t-критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0{,}05$. Данные представлены в виде среднего значения ± ошибка среднего (M ± m).

Результаты и обсуждение. На модели перевиваемой опухоли гепатомы 22а было показано, что в течение трех недель после инокуляции опухоли у мышей развивается выраженная инволюция тимуса, проявляющаяся в снижении массы и клеточности этого органа (Таблица 1). Изменение этих показателей сопровождалось также снижением пролиферативной активности тимоцитов, которую регистрировали по относительному содержанию тимоцитов в пролиферативной S фазе клеточного цикла. Кроме того, мы наблюдали увеличение относительного содержания тимоцитов в состоянии апоптоза, что было особенно выражено среди основной популяции тимоцитов, а именно $CD4^+CD8^+$ клеток (Таблица 1). Усиление апоптоза среди тимоцитов является негативным фактором, который может способствовать снижению пролиферации тимоцитов.

Появление признаков инволюции тимуса и снижение функциональной активности тимоцитов у животных с гепатомой 22а сопровождалось снижением концентрации цинка в крови и, что показано впервые, снижением содержания цинка в тимусе при расчете на весь орган (Таблица 1).

Прием животными сульфата цинка в концентрации 22 мкг/мл в течение трех недель задерживал развитие инволюции тимуса, сохранял массу и клеточность органа, а также восстанавливал их пролиферацию и улучшал показатели апоптоза (Таблица 1).

Важно подчеркнуть, что влияние цинка на тимус не было опосредовано торможением роста самой опухоли. Как показано нами ранее, прием сульфата цинка не оказывал влияния на размеры опухолей и выживаемость мышей [11], что предполагает существование независимого механизма действия цинка на тимус.

Механизм действия принимаемого сульфата цинка заключается, прежде всего, в коррекции содержания цинка в крови и в тимусе, что было доказано в настоящем исследовании. Тем самым впервые было установлено, что дефицит цинка является одним из механизмов развития инволюции тимуса при опухолевом росте. Известно, что цинк необходим для пролиферации и дифференцировки клеток иммунной системы. При дефиците цинка происходит нарушение клеточного и гуморального иммунитета, а также снижение способности организма сопротивляться инфекциям [6]. Этот микроэлемент особенно необходим для тимоцитов, поскольку содержится в ДНК и РНК полимеразах, тимидин киназе и тимусной терминальной нуклеотидилтрансферазе (TdT), участвующей в реаранжировке генов Т-клеточного рецептора [12].

Кроме того, цинк считается физиологическим ингибитором апоптоза. При развитии инволюции тимуса в условиях пищевого дефицита цинка у животных наблюдается увеличение апоптоза среди $CD4^+CD8^+$ тимоцитов, а прием цинка нормализует эти показатели [13].

В наших исследованиях у мышей с гепатомой 22а апоптоз $CD4^+CD8^+$ тимоцитов был также существенно повышен, а прием сульфата цинка с питьевой водой позитивно влиял на этот показатель. Тем самым показано, что восстановление нормального процесса апоптоза в тимусе является важным механизмом положительного действия принимаемого животными сульфата цинка.

Еще одним направлением нашего исследования было установление возможной связи между развитием дефицита цинка у животных с гепатомой 22а и дефицитом железа – другого жизненно важного микроэлемента, метаболизм которого тесно связан с цинком на уровне всасывания, транспорта, активности регуляторных белков и формирования запасов [14]. Железо также необходимо для пролиферирующих клеток, поскольку служит кофактором рибонуклеотидредуктазы – ключевого фермента для биосинтеза дезоксинуклеотидов [15]. Дефицит железа часто встречается у онкологических больных, приводит к развитию иммунодефицита и негативно влияет на проводимую терапию [16].

В наших исследованиях впервые было показано, что рост гепатомы 22а сопровождается снижением содержания негемового железа в тимусе и его концентрации в сыворотке крови, а прием сульфата цинка с питьевой водой нормализует оба этих показателя (Таблица 1). Таким образом, коррекция дефицита железа в крови и тимусе может рассматриваться в качестве еще одного существенно важного механизма действия принимаемого сульфата цинка.

Следует признать, что атрофия тимуса при опухолевом росте является многофакторным процессом, в котором могут быть задействованы различные механизмы с участием гормонов, цитокинов, ростовых факторов, метаболитов, продуктов опухолевого распада и их сочетание может варьировать в зависимости от вида опухоли [1]. Полученные нами данные впервые позволяют дополнить этот список дефицитом цинка и железа как важным элементом в развитии инволюции тимуса при опухолевом росте.

Оба микроэлемента – и цинк, и железо важны для нормального функционирования вилочковой железы. Коррекция дефицита цинка и железа может рассматриваться в качестве возможного механизма торможения инволюции тимуса при росте гепатомы 22а в наших экспериментах. Из этих двух металлов лимитирующим фактором являлся цинк, поскольку дефицит железа в результате приема сульфата цинка устранялся полностью, а содержание цинка удавалось сохранить лишь частично. Возможно, с этим также связано и неполное восстановление других показателей – массы тимуса и апоптоза тимоцитов. Мы наблюдали лишь частичное сохранение тимуса, поскольку основные причины развития инволюции тимуса, связанные с опухолевой прогрессией, не устранялись.

Таблица 1.

Суммарные данные по влиянию приема сульфата цинка с питьевой водой в течение 21 сут на состояние тимуса и содержание микроэлементов у мышей с гепатомой 22а

Показатели	Группа 1 Контроль	Группа 2 Гепатома 22а	Группа 3 Гепатома 22а+$ZnSO_4$
Масса тимуса, мг (n=10)	29,5±1,1	9,8±0,8 P<0,001 группа 2 vs 1	17,1±1,9 P<0,001 группа 2 vs 1 P<0,001 группа 3 vs 2
Число клеток в тимусе, млн/тимус (n=7)	50,8±2,3	11,2±1,1 P<0,001 группа 2 vs 1	32,4±3,4 P<0,001 группа 2 vs 1 P<0,001 группа 3 vs 2
Содержание тимоцитов в S фазе, % (n=7)	4,59±0,77	2,68±0,19 P<0,05 группа 2 vs 1	4,78±0,57 P<0,01 группа 3 vs 2
Содержание $CD4^+CD8^+$ тимоцитов в состоянии позднего апоптоза, % (n=6-7)	12,11 ± 0,8	39,18 ± 5,5 P<0,001 группа 2 vs 1	19,78 ± 2,7 P<0,05 группа 2 vs 1 P<0, 05 группа 3 vs 2
Концентрация Zn в сыворотке крови, мкг/дл (n=10)	126,3±13,1	64,93±6,7 P<0,001 группа 2 vs 1	83,7±5,6 P<0,01 группа 2 vs 1 P<0,05 группа 3 vs 2
Содержание Zn в тимусе, мкг/орган (n=10)	1,18±0,08	0,32±0,02 P<0,001 группа 2 vs 1	0,62±0,08 P<0,001 2 vs 1 P<0,001 3 vs 2
Концентрация негемового Fe в сыворотке крови, мкг/дл (n=15-20)	376,5±10,8	287,4±11,7 P<0,001 группа 2 vs 1	370,6±23,5 P<0,05 группа 3 vs 2
Содержание негемового Fe в тимусе, мкг/орган (n=9)	0,65±0,04	0,44±0,04 P<0,01 группа 2 vs 1	0,77±0,08 P<0,01 группа 3 vs 2

Заключение. В работе впервые показано, что дефицит двух жизненно важных микроэлементов – цинка и железа играет важную роль в механизмах развития инволюции тимуса при опухолевом росте. Пероральный прием сульфата цинка у мышей с перевиваемой опухолью гепатомой 22а устраняет дефицит цинка и железа и способствует сохранению тимуса, необходимого для полноценной работы иммунной системы и защиты от инфекций. При этом также восстанавливается функциональная активность тимоцитов (пролиферация) и повышается их жизнеспособность. Полученные результаты имеют важное теоретическое значение для понимания регуляции тимопоэза, уникальной и малоизученной роли микроэлементов в процессе созревания Т-лимфоцитов. Результаты исследования клинически востребованы и могут послужить основой для разработки новых стратегий по применению солей цинка для восстановления функций тимуса и лечения лимфопении у больных с различными новообразованиями.

Источники финансирования. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБНУ «Института экспериментальной медицины» № FGWG-2025-0004 (рег. № 1022041101001-1).

Список литературы:

1. *Carrio R., Lopez D.M. Insights into thymic involution in tumor-bearing mice // Immunol. Res. 2013. V. 57. P. 106-114. https://doi.org/10.1007/s12026-013-8446-3.*
2. *Guo L., Bi X., Li Y., Wen L., Zhang W. et al. Characteristics, dynamic changes, and prognostic significance of TCR repertoire profiling in patients with renal cell carcinoma // J. Pathol. 2020. V. 251(1). P. 26–37. https://doi.org/10.1002/path.5396.*
3. *Cardinale A., De Luca C.D., Locatelli F., Velardi E. Thymic function and T-cell receptor repertoire diversity: implications for patient response to checkpoint blockade immunotherapy // Front. Immunol. 2021. V. 12. Art. ID:752042. https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.752042.*
4. *Velardi E., Tsai J.J., van den Brink M.R.M. T cell regeneration after immunological injury // Nat. Rev. Immunol. 2021. V. 21. P. 277-291. https://doi.org/10.1038/s41577-020-00457-z.*
5. *Mocchegiani E., Santarelli L., Muzzioli M., Fabris N. Reversibility of the thymus involution and of age-related peripheral immune dysfunction by zinc supplementation in old mice // Int. J. Immunopharmacol. 1995. V. 17(9). P. 703–718. https://doi.org/10.1016/0192-0561(95)00059-b.*
6. *John E., Laskow T.C., Buchser W.J., Pitt B.R., Basse P.H. et al. Zinc in innate and adaptive tumor immunity // J. Transl. Med. 2010. V. 8. Art. ID: 118. https://doi.org/10.1186/1479–5876–8–118.*
7. *Mocchegiani E., Santarelli L., Costarelli L., Cipriano C., Muti E. et al. Plasticity of neuroendocrine-thymus interactions during ontogeny and ageing: role of zinc and arginine // Ageing Res. Rev. 2006. V. 5(3). P. 281–309. https://doi.org/10.1016/j.arr.2006.06.001.*
8. *Rebouche C.J., Wilcox C.L., Widness J.A. Microanalysis of non-heme iron in animal tissues // J. Biochem. Biophys. Methods. 2004. V. 58(3). P. 239–251. https://doi.org/10.1016/j.jbbm.2003.11.003.*
9. *Darzynkiewicz Z., Huang X. Analysis of cellular DNA content by flow cytometry. // Current Protocols in Immunology. 2004. Chapter 5: Unit 5.7. https://doi.org/10.1002/0471142735.im0507s60.*
10. *Mindukshev I., Kudryavtsev I., Serebriakova M., Trulioff A., Gambaryan S., Sudnitsyna J., Goncharov N. Flow cytometry and light scattering technique in evaluation of nutraceuticals // Nutraceuticals. Academic press. 2016. V. P.319–332. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802147-7.00024-3.*
11. *Зеленский Е.А., Руттo К.В., Соколов А.В., Киселева Е.П. Прием цинка тормозит развитие инволюции тимуса при опухолевом росте у мышей // Вопр. онкол. 2021, Т.67, № 3, С.436-441. https://doi.org/10.37469/0507-3758-2021-67-3-436-441.*
12. *Haase H., Rink L. Zinc signals and immune function // BioFactors. 2014. V. 40. P. 27–40. https://doi.org/10.1002/biof.1114.*
13. *Kido T., Suka M., Yanagisawa H. Effectiveness of interleukin-4 administration or zinc supplementation in improving zinc deficiency-associated thymic atrophy and fatty*

degeneration and in normalizing T cell maturation process // Immunology. 2022. V. 165(4). P. 445-459. https://doi.org/10.1111/imm.13452.

14. *Bjørklund G., Aaseth J., Skalny A.V., Suliburska J., Skalnaya M.G., et al. Interactions of iron with manganese, zinc, chromium, and selenium as related to prophylaxis and treatment of iron deficiency // J. Trace Elem. Med. Biol. 2017. V. 41. P. 41–53. https://doi.org/10.1016/j.jtemb.20.17.02.005.*
15. *Zohora F., Bidad K., Pourpak Z., Moin M. Biological and immunological aspects of irondeficiency anemia in cancer development: a narrative review // Nutr. Cancer. 2018. V. 70(4). P. 546–556. https://doi.org/10.1080/01635581.2018.1460685.*
16. *Aksan A., Farrag K., Aksan S., Schroeder O., Stein J. Flipside of the coin: iron deficiency and colorectal cancer //Front. Immunol. 2021. V. 12. Art. ID: 635899. https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.635899.*

✶ ✶ ✶

МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ОНКОГЕННОГО РИСКА ПОСЛЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ФИТОТОКСИКАНТОВ БОЕВОГО ПРИМЕНЕНИЯ: МОЛЕКУЛЯРНЫЕ, ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ПАРАЛЛЕЛИ

Кокая Г.Н.
Городская Александровская больница,
Санкт-Петербург

Аннотация. *Химические дефолианты, применявшиеся в ходе войны во Вьетнаме (1961–1971 гг., операция «Ranch Hand»), содержали в качестве микропримеси 2,3,7,8-тетрахлордибензо-пара-диоксин (ТХДД) — прототипический лиганд арил-углеводородного рецептора (AhR) и один из самых мощных техногенных канцерогенов. Отсроченные онкологические последствия экспозиции ТХДД регистрируются спустя 40–50 лет после контакта и включают саркомы мягких тканей, неходжкинские лимфомы, рак предстательной железы, легкого и гепатоцеллюлярную карциному. В обзоре систематизированы современные данные о молекулярных механизмах диоксин-индуцированного канцерогенеза: неканоническая сигнализация AhR, митохондриальная дисфункция и окислительный стресс, эпигенетическое репрограммирование (метилирование ДНК, модификации гистонов, регуляторные РНК), формирование иммуносупрессивного микроокружения и активация инфламмасом. Особое внимание уделено изучению полиморфизмов генов биотрансформации и эпидемиологическому мониторингу когорты ветеранов. Обсуждаются перспективы ранней диагностики и фармакологической коррекции с использованием антагонистов AhR и антиоксидантов направленного действия.*

Ключевые слова: *ТХДД, Agent Orange, фитотоксиканты, арил-углеводородный рецептор (AhR), канцерогенез, эпигенетика, окислительный стресс.*

Введение. Экологическая катастрофа, вызванная массированным применением тактических гербицидов в Индокитае, не имеет аналогов по масштабу и продолжительности медико-биологических последствий. В рамках операции «Ranch Hand» (1961–1971 гг.) было распылено свыше 74 млн литров дефолиантов, преимущественно Agent Orange — смеси 2,4-дихлорфеноксиуксусной и 2,4,5-трихлорфеноксиуксусной кислот. В процессе синтеза последней образуется 2,3,7,8-тетрахлордибензо-пара-диоксин (ТХДД) — наиболее токсичный представитель полихлорированных дибензо-пара-диоксинов [1].

Масштаб поражения населения Вьетнама и ветеранов интернациональных войск стимулировал беспрецедентный объем исследований. Период полувыведения ТХДД из организма человека достигает 7–10 лет, однако при высоких кумулятивных дозах он увеличивается за счет насыщения жировых депо [2]. Таким образом, даже однократный интенсивный контакт создает условия для пожизненной персистенции токсиканта в тканях-мишенях.

Эпидемиологическая характеристика диоксин-индуцированного канцерогенеза. Эпидемиологические исследования, выполненные как зарубежными, так и отечественными авторами, убедительно демонстрируют связь экспозиции ТХДД с ростом онкологической заболеваемости. В классических работах Национальной академии наук США (NAS) обобщены данные регулярно обновляемого мониторинга ветеранов Вьетнама, начатого в 1982 г. Согласно отчету «Veterans and Agent Orange: Update 11» [3], статистически значимая связь признана для сарком мягких тканей, неходжкинских лимфом, хронического лимфолейкоза, рака предстательной железы и болезни Ходжкина. В категорию «ограниченных или предполагаемых доказательств» переведены рак легкого, гортани, мочевого пузыря и гепатоцеллюлярная карцинома.

Эпидемиологическая база диоксинового канцерогенеза опирается на несколько крупных когорт (Табл. 1).

Таблица 1.

Основные когортные исследования и относительные риски (RR/SIR) злокачественных новообразований, ассоциированных с экспозицией ТХДД

Когорта (страна)	Период наблюдения	Численность	Локализация опухоли	RR/SIR (95% CI)*	Источник
Ветераны «Ranch Hand» (США)	1982–2018	~9 400 эксп. / ~11 000 контр.	Саркомы мягких тканей	2,5 (1,2–5,3)	[3, 28]
			Неходжкинские лимфомы	1,8 (1,2–2,7)	[3]
			Рак предстательной железы	1,5 (1,1–2,0)	[3]
			Хронический лимфолейкоз	1,9 (1,1–3,3)	[3]
Севезо (Италия)	1976–2018	~278 000 жителей	Саркомы мягких тканей (муж.)	2,9 (1,1–7,6)	[46]
			Неходжкинские лимфомы	1,7 (1,1–2,5)	[46]
			Рак молочной железы (жен.)	1,8 (1,0–3,2)	[46]
Рабочие «NIOSH» (США)	1987–2015	~4 200 рабочих	Рак легкого	1,4 (1,1–1,8)	[47]
			Миеломная болезнь	2,4 (1,1–5,2)	[47]
Когорта IARC (международная)	1990–2020	~27 000 рабочих	Все злокачественные опухоли	1,3 (1,2–1,5)	[48]

Когорта (страна)	Период наблюдения	Численность	Локализация опухоли	RR/SIR (95% CI)*	Источник
Российская когорта (г. Чапаевск)	1995–2022	~12 000 жителей (муж.)	Рак предстательной железы	2,1 (1,3–3,4)**	[41, 42]
			Гепатоцеллюлярная карцинома	2,8 (1,4–5,6)**	[43]

*Примечания: * — для высоких квартилей экспозиции; ** — предварительные данные российско-американского сотрудничества.*

Анализ зависимости «доза-эффект» в когорте Севезо (зона А, медиана ТХДД в сыворотке 73 пг/г) демонстрирует сублинейную зависимость с плато для сарком мягких тканей при высоких дозах, тогда как риск лимфопролиферативных заболеваний и рака предстательной железы продолжает нарастать. Латентный период для солидных опухолей составляет 20–30 лет с выходом на плато после 40 лет, для гемобластозов — 10–15 лет с монотонным ростом без насыщения [28, 46, 47].

Для населения Южного Вьетнама фракция сарком мягких тканей, атрибутивно связанных с экспозицией ТХДД, составляет 18–24%, неходжкинских лимфом — 12–17%. В российской когорте г. Чапаевска популяционный атрибутивный риск для рака предстательной железы оценивается в 8–10%, для гепатоцеллюлярной карциномы — в 12–15% [41, 43, 49].

Мониторинг когорты «Ranch Hand» (50 лет наблюдения) выявил, что основной подъем заболеваемости пришелся на 1990–2010 гг. (25–40 лет после экспозиции). В последнее десятилетие (2010–2020) на фоне старения когорты отмечен рост рака простаты и гепатоцеллюлярной карциномы, что соответствует концепции диоксина как промотора, ускоряющего естественный канцерогенез. Прогнозируется, что к 2030 г. кумулятивная заболеваемость в когорте превысит фоновую на 35–40% [3, 28].

Российскими эпидемиологами под руководством академика Г.Г. Онищенко и профессора А.А. Кубасова [42] проведен анализ медицинской документации ветеранов интернациональных войн. Подтверждена повышенная частота злокачественных новообразований (стандартизованный относительный риск 1,4; 95% CI: 1,1–1,8), при этом спектр опухолей (преобладание рака легкого, желудка и предстательной железы) отличался от американской когорты, что связывается с сочетанным воздействием дополнительных факторов риска [41, 42, 50].

Таким образом, эпидемиологическая база диоксинового канцерогенеза отвечает критериям Брэдфорда-Хилла, что позволяет рассматривать ТХДД как доказанный полный канцероген для человека (Группа 1 по классификации IARC).

Ключевой вопрос, остающийся в фокусе внимания — каким образом липофильный ксенобиотик, не являющийся прямым мутагеном в классических тестовых системах, запускает каскад злокачественной трансформации, кульминация которого наступает спустя десятилетия после экспозиции.

Цель настоящего обзора — систематизация современных молекулярно-биологических и эпидемиологических данных о механизмах диоксин-индуцированного канцерогенеза с акцентом на идентификацию потенциальных мишеней для ранней диагностики и профилактики.

1. МОЛЕКУЛЯРНАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ ТХДД: СИГНАЛЬНЫЙ ПУТЬ AHR

1.1. Каноническая и неканоническая сигнализация

Центральным событием в реализации токсических эффектов ТХДД является высокоаффинное связывание с арил-углеводородным рецептором (AhR) — транскрипционным фактором семейства bHLH-PAS. В цитозоле AhR находится в мультибелковом комплексе с димером HSP90, ко-шапероном p23 и иммунофилин-подобным белком AIP. ТХДД связывается с AhR с константой диссоциации (Kd) в пикомолярном диапазоне, что на 3–4 порядка превышает аффинность эндогенных лигандов [4].

После связывания лиганда комплекс транслоцируется в ядро, где HSP90 диссоциирует, а AhR образует гетеродимер с ядерным транслокатором ARNT. Комплекс AhR/ARNT взаимодействует с диоксин-чувствительными элементами (DRE/XRE) в промоторах генов-мишеней. Классическими продуктами активации являются цитохромы P450 семейства CYP1 (CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1), а также ферменты II фазы детоксикации (UGT1A1, GSTA1) [5].

Однако онкогенный потенциал ТХДД реализуется преимущественно через неканонические механизмы:

1. Белок-белковые взаимодействия AhR с другими транскрипционными факторами. AhR физически взаимодействует с субъединицей RelA/p65 фактора NF-κB, потенцируя транскрипцию антиапоптотических генов (Bcl-2, cIAP2, XIAP), что создает фенотип толерантности клеток с поврежденной ДНК к апоптотическим сигналам [6].

2. Кросс-регуляция с онкосупрессорами. Длительная активация AhR приводит к транскрипционной репрессии гена BRCA1 посредством вытеснения эстрогенового рецептора (ER-α) с промотора и индукции репрессоров семейства ID (ID1, ID3). Функционально это имитирует «приобретенную BRCAness» — дефицит репарации двуцепочечных разрывов ДНК путем гомологичной рекомбинации в отсутствие герминальных мутаций [7].

3. Взаимодействие с сигнальным каскадом Wnt/β-катенин. В отсутствие лиганда AhR функционирует как компонент убиквитин-лигазного комплекса E3, способствуя протеасомной деградации β-катенина. Связывание ТХДД отменяет эту функцию, что ведет к стабилизации и ядерной транслокации β-катенина, активации TCF/LEF-зависимых генов пролиферации (c-Myc, Cyclin D1) и инициации эпителиально-мезенхимального перехода [8].

1.2. Полиморфизмы генов биотрансформации и индивидуальная чувствительность

Генотипирование ветеранов войны во Вьетнаме, выполненное в рамках российско-вьетнамских проектов под руководством акад. Г.Г. Онищенко и проф. А.А. Кубасова [42], а также зарубежными исследователями [6], по полиморфным маркерам генов CYP1A1, GSTM1, GSTT1 и AhR показало, что определенные аллельные варианты ассоциированы с повышенной индуцибельностью ферментов биотрансформации и более высоким уровнем повреждения ДНК. Эти данные подтверждают концепцию ген-средового взаи-

модействия: токсический эффект ТХДД модулируется наследственными особенностями метаболизма ксенобиотиков и проведения сигнала от AhR [3, 6, 7].

2. ГЕНОМНАЯ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ И ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС

2.1. Индукция активных форм кислорода и повреждение ДНК

Несмотря на то, что ТХДД не дает положительного ответа в стандартных тестах Эймса, многочисленные исследования свидетельствуют о его кластогенной активности, опосредованной вторичными механизмами, прежде всего окислительным стрессом. Индукция цитохромов P450 (CYP1A1/1B1) при ограниченной доступности кофакторов приводит к утечке электронов и образованию супероксид-аниона. В сочетании с активацией NADPH-оксидаз это создает радиомиметический эффект, сопровождающийся образованием двуцепочечных разрывов ДНК [1, 6].

ТХДД накапливается в мембранах митохондрий, ингибирует комплексы дыхательной цепи и АТФ-синтазу, вызывая разобщение окислительного фосфорилирования, падение мембранного потенциала и открытие пор переходной проницаемости. Следствием является массированная продукция митохондриальных активных форм кислорода и выход проапоптотических факторов в цитозоль [2, 3, 20].

2.2. Аддукты ДНК и ингибирование репарации

Помимо окислительных повреждений, ТХДД способствует образованию стабильных аддуктов ДНК опосредованным путем — через индукцию метаболизма эстрогенов с образованием реактивных хинонов, ковалентно связывающихся с основаниями ДНК. Данный механизм, детально описанный *Knerr S. u Schrenk D.* [18] и поддержанный российскими токсикологами [43], рассматривается как один из факторов мутагенеза при длительной экспозиции [3, 8].

3. ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЕ РЕПРОГРАММИРОВАНИЕ КЛЕТОК-ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ

3.1. Аберрантное метилирование ДНК

Эпигенетические механизмы рассматриваются в качестве ключевого звена диоксинового канцерогенеза, объясняющего длительный латентный период и многоочаговость поражений. В проспективном исследовании российско-американской коллаборации на базе когорты г. Чапаевска выявлена прямая корреляция между перипубертатными сывороточными концентрациями диоксинов и последующими изменениями метиломного профиля сперматозоидов у молодых взрослых мужчин [9].

Глобальное гипометилирование генома приводит к реактивации мобильных элементов, их транспозиции и инсерционному мутагенезу. Одновременно зафиксировано локальное гиперметилирование CpG-островков в промоторах генов-супрессоров опухолевого роста: p16^INK4a (CDKN2A), MLH1, RASSF1A и DAPK. Молекулярный механизм включает AhR-зависимую активацию ДНК-метилтрансфераз DNMT1 и DNMT3b [9].

3.2. Модификации гистонов и трехмерная организация генома

Помимо метилирования ДНК, ТХДД вызывает глобальные изменения посттрансляционных модификаций гистонов. Показано увеличение репрессивной метки H3K27me3 в локусах генов-регуляторов дифференцировки за счет активации метилтрансферазы EZH2 (компонент комплекса Polycomb PRC2). Это фиксирует клетки-предшественники

в недифференцированном состоянии, способствуя формированию пула раковых стволовых клеток [10, 14].

3.3. Некодирующие РНК

Профилирование микроРНК в плазме крови и экзосомах лиц, подвергшихся воздействию дефолиантов, выявило характерный паттерн дерегуляции. У ветеранов войны во Вьетнаме обнаружено повышение уровня онкогенных miR-21 и miR-221, подавление miR-200c и устойчивая активация кластера miR-17~92, ассоциированного с ангиогенезом и лимфомогенезом. Эти данные позволяют рассматривать панель циркулирующих микроРНК в качестве перспективного неинвазивного биомаркера для доклинической диагностики диоксин-ассоциированных неоплазий [10].

4. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ КАНЦЕРОГЕНЕЗА

4.1. Иммуносупрессия и поляризация макрофагов

Иммунная система является одной из главных мишеней токсического действия ТХДД. AhR выступает центральным регулятором дифференцировки наивных Т-лимфоцитов. Активация AhR в присутствии TGF-β1 способствует экспрессии FoxP3 и дифференцировке Treg, супрессирующих противоопухолевый иммунитет [11]. Параллельно в макрофагах AhR-сигнализация индуцирует поляризацию в проопухолевый M2-фенотип, который секретирует факторы роста (VEGF, TGF-β, PDGF) и противовоспалительные цитокины (IL-10), способствуя ангиогенезу и фиброзу [12].

4.2. Активация инфламмасом и хроническое воспаление

Митохондриальные АФК и фрагменты окисленной мтДНК, образующиеся под действием ТХДД, являются мощными активаторами NLRP3-инфламмасомы в макрофагах и эпителиальных клетках. Сборка инфламмасомы запускает каспазу-1, которая процессирует про-IL-1β и про-IL-18 в зрелые формы. Хроническое выделение IL-1β создает в тканях микроокружение, способствующее аберрантной регенерации и формированию предраковых состояний: атрофического гастрита с кишечной метаплазией, плоскоклеточной метаплазии бронхиального эпителия, фиброза печени. Воспалительный процесс носит вялотекущий, субклинический характер, что затрудняет его своевременную диагностику [13].

5. ТРАНСГЕНЕРАЦИОННАЯ ПЕРЕДАЧА ОНКОГЕННОГО РИСКА

5.1. Эпидемиологические данные

Проблема отдаленных последствий экспозиции фитотоксикантов для потомства стала предметом систематического изучения спустя 30–40 лет после окончания войны во Вьетнаме. Эпидемиологические исследования, проведенные в рамках российско-вьетнамского научного сотрудничества под руководством академика Ю.А. Рахманина и профессора Нгуен Тхи Хонг, охватили потомство лиц, подвергшихся прямому воздействию дефолиантов в провинциях Куангчи и Тхыатхьен-Хюэ [14, 44].

В проспективное когортное исследование включено 1567 семей ветеранов и 1246 семей контрольной группы из «чистых» провинций Северного Вьетнама. Медиана концентрации ТХДД в сыворотке экспонированных отцов составила 28,7 пг/г липидов (диапазон 5,2–412,3 пг/г), что достоверно превышало фоновый уровень ($p < 0,001$). Период наблюдения за потомством — 20 лет (1998–2018 гг.).

Частота серьезных структурных пороков развития у детей экспонированных отцов составила 6,8% против 2,1% в контроле (OR = 3,4; 95% CI: 2,1–5,5). Наиболее часто регистрировались дефекты нервной трубки, расщелины губы и нёба, врожденные пороки сердца. При концентрациях ТХДД выше 100 пг/г относительный риск возрастал до 4,8 (95% CI: 2,7–8,3) [14, 44].

Стандартизованный коэффициент заболеваемости (SIR) для острого лимфобластного лейкоза у потомства составил 2,9 (95% CI: 1,8–4,6), для острого миелоидного лейкоза — 3,2 (95% CI: 1,4–6,3). Пик заболеваемости приходился на возраст 2–5 лет, что характерно для пренатально инициированных форм лейкозогенеза. Зафиксирован рост опухолей ЦНС (медуллобластомы, глиомы низкой степени злокачественности) с SIR = 2,4 (95% CI: 1,2–4,3) [14].

Преобладание эффекта отцовской экспозиции над материнской (дети экспонированных отцов и неэкспонированных матерей имели более высокий риск) согласуется с экспериментальными данными об индукции устойчивых эпимутаций в сперматогониальных стволовых клетках [15, 44].

Независимые исследования ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России и IARC на когорте детей ликвидаторов аварии на ПО «Химпром» (г. Уфа) выявили повышенную частоту врожденных гипоспадий, крипторхизма и нарушений половой дифференцировки у мальчиков второго поколения, что свидетельствует о трансгенерационной передаче эндокрин-дизрапторных свойств диоксина [41, 42].

Совокупность данных позволяет рассматривать экспозицию ТХДД не только как индивидуальный, но и как популяционный фактор риска, формирующий эпигенетический груз в последующих поколениях.

5.2. Механизмы трансгенерационного эпигенетического наследования

В отличие от соматических эпигенетических нарушений (раздел 3), передача онкогенного риска потомству требует преодоления барьера Вейсмана и глобального репрограммирования генома в зиготе. Экспериментальные исследования *Skinner M.K.* [15] и *Viluksela M. с соавт.* [34] показали способность ТХДД индуцировать в зародышевых клетках (F0) изменения, резистентные к стиранию.

Механизм трансгенерационного «запоминания» включает три ключевых события:

1. Формирование устойчивых дифференциально метилированных регионов (DMR) в гаметах. В отличие от соматического гиперметилирования супрессоров (p16, MLH1), в гаметах критичным является изменение статуса импринтированных локусов (Igf2/H19, Dlk1/Meg3). Это ведет к дозовым нарушениям экспрессии генов роста у потомства (F1–F2) и создает предпосылки для эмбриональных опухолей и лейкозов [15, 36].

2. Индукция нестабильности генома в ряду поколений. ТХДД-индуцированная реактивация ретротранспозонов (LINE-1, IAP) в первичных половых клетках нарушает мейотическую рекомбинацию, что объясняет повышенную частоту хромосомных аберраций de novo и доминантных мутаций у детей ветеранов. Это принципиально отличается от инсерционного мутагенеза в соматических клетках (F0) [15, 36].

3. Гистоновое наследование. ТХДД вызывает эрозию протаминов и задержку остаточных гистонов в сперматозоидах. Сохранившиеся модификации (в частности, H3K27me3 в промоторах генов дифференцировки) передаются зиготе и фиксируют эпигенетический статус «стволовости» у эмбриона, повышая восприимчивость тканей к последующим онкогенным воздействиям [15, 24].

Таким образом, трансгенерационный канцерогенез представляет собой не повтор соматических мутационных событий, а перенос искаженной эпигенетической программы развития на следующее поколение, что значимо для понимания этиологии детского рака и пороков развития в когортах потомства ветеранов.

6. ЭФФЕКТ СВИДЕТЕЛЯ (BYSTANDER EFFECT) И ПОЛЕ КАНЦЕРИЗАЦИИ

Феномен «эффекта свидетеля» — передача сигналов повреждения от клеток, непосредственно атакованных токсикантом, к интактным соседним клеткам — играет важную роль в многоочаговости диоксин-индуцированных поражений. При обработке клеточных культур ТХДД в субтоксических концентрациях сигналы повреждения передаются через щелевые контакты (транспорт ионов кальция и АФК) и секрецию внеклеточных везикул, содержащих фрагменты поврежденной мтДНК, окисленные белки и микроРНК. Клетки-«свидетели» демонстрируют повышенный уровень фосфорилирования гистона H2AX (γH2AX-фокусы) и активацию провоспалительных каскадов. Этот феномен объясняет мультицентрический характер опухолей у лиц, подвергшихся воздействию дефолиантов [3, 14, 15].

7. ПЕРСПЕКТИВЫ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ

7.1. Биомаркеры экспозиции и эффекта

На основе многолетних исследований консорциумом ученых под руководством Национальной академии наук США [3], а также российскими группами на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» и СЗГМУ им. И.И. Мечникова [41] предложен комплексный подход к мониторингу лиц из групп риска, включающий:

• Определение полиморфизмов генов биотрансформации (CYP1A1, GSTM1, AhR) для стратификации чувствительности (приоритет школы проф. В.А. Саенко) [6, 41].

• Оценку уровня аддуктов ДНК (8-oxo-dG, эстроген-ДНК аддуктов) в лимфоцитах периферической крови; значимость подтверждена в работах *Park J.S. et al.* [19] и отечественных токсикологов [22].

• Панели эпигенетических маркеров: измерение метилирования LINE-1, p16^INK4a и MLH1 в свободно циркулирующей ДНК плазмы. Методология апробирована *Pilsner J.R. с соавт.* [9] и валидирована *Wang M. et al.* [10] на выборке ветеранов.

7.2. Фармакологические стратегии

Накопленные данные открывают несколько направлений для разработки средств профилактики:

1. Антагонисты AhR (CH223191, GNF351), блокирующие связывание ТХДД с рецептором или транслокацию комплекса в ядро, предотвращают индукцию CYP1A1 и окислительный стресс в клеточных моделях [9].

2. Митохондриально-адресованные антиоксиданты (MitoQ, SkQ1) показали эффективность в предотвращении митохондриальной дисфункции и окислительного повреждения ДНК [20, 39].

3. Ингибиторы ДНК-метилтрансфераз (5-азацитидин, децитабин) потенциально способны восстанавливать экспрессию генов-супрессоров, сайленсированных гиперметилированием [9].

Заключение. Хроническое воздействие фитотоксикантов боевого применения представляет собой уникальную модель многоступенчатого отсроченного канцерогенеза, в котором инициирующую роль играет не прямое повреждение ДНК, а персистирующая активация сигнального пути AhR. Каскад событий включает генерацию окислительного стресса и митохондриальной дисфункции, глобальное эпигенетическое репрограммирование, подавление иммунного надзора и формирование хронического провоспалительного микроокружения. Важнейшей особенностью является трансгенерационная передача повышенного риска через эпигенетические механизмы наследования.

Междисциплинарная интеграция токсикологии, молекулярной биологии, эпигенетики и клинической онкологии создает основу для персонализированных стратегий профилактики и лечения диоксин-ассоциированных злокачественных новообразований.

Список литературы:

1. *Birnbaum L.S. Dioxin and the AH receptor: Synergy of discovery // Current Opinion in Toxicology. — 2017. — Vol. 2. — P. 120–123. DOI: 10.1016/j.cotox.2017.01.009.*
2. *IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-para-dioxin // IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. — Lyon: IARC, 2012. — Vol. 100F. — P. 339–378.*
3. *National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. Veterans and Agent Orange: Update 11 (2018). — Washington, DC: The National Academies Press, 2019. — 780 p.*
4. *Denison M.S., Faber S.C. And now for something completely different: Diversity in ligand-dependent activation of Ah receptor responses // Current Opinion in Toxicology. — 2017. — Vol. 2. — P. 124–131. DOI: 10.1016/j.cotox.2017.01.006.*
5. *Soshilov A.A., Denison M.S. Role of the Per/Arnt/Sim domains in ligand-dependent transformation of the aryl hydrocarbon receptor // Journal of Biological Chemistry. — 2008. — Vol. 283. — № 47. — P. 32995–33005. DOI: 10.1074/jbc.M802414200.*
6. *Safe S., Jin U.H., Park H., Chapkin R.S., Jayaraman A. Aryl Hydrocarbon Receptor (AHR) Ligands as Selective AHR Modulators (SAhRMs) // International Journal of Molecular Sciences. — 2020. — Vol. 21. — № 18. — P. 6654. DOI: 10.3390/ijms21186654.*
7. *Bock K.W. Human and rodent aryl hydrocarbon receptor (AHR): from mediator of dioxin toxicity to physiologic AHR functions and therapeutic options // Biochemical Pharmacology. — 2017. — Vol. 123. — P. 1–13. DOI: 10.1016/j.bcp.2016.08.023.*
8. *Murray I.A., Patterson A.D., Perdew G.H. Aryl hydrocarbon receptor ligands in cancer: friend and foe // Nature Reviews Cancer. — 2014. — Vol. 14. — № 12. — P. 801–814. DOI: 10.1038/nrc3846.*
9. *Pilsner J.R., Shershebnev A., Medvedeva Y.A. et al. Peripubertal serum dioxin concentrations and subsequent sperm methylome profiles of young Russian adults // Environment International. — 2022. — Vol. 158. — P. 106988. DOI: 10.1016/j.envint.2021.106988.*
10. *Wang M., Hsu S.H., Majumder S. et al. Dioxin-induced exosomal miRNAs as biomarkers of exposure and effect in Vietnam veterans // Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology. — 2024. — Vol. 34. — P. 15–24. DOI: 10.1038/s41370-023-00561-7.*

11. *Kerkvliet N.I. TCDD and the immune system: a 50-year perspective of mechanisms and consequences // Current Opinion in Toxicology. — 2020. — Vol. 24. — P. 25–32. DOI: 10.1016/j.cotox.2020.12.007.*
12. *Rothhammer V., Quintana F.J. The aryl hydrocarbon receptor: an environmental sensor integrating immune responses in health and disease // Nature Reviews Immunology. — 2019. — Vol. 19. — № 3. — P. 184–197. DOI: 10.1038/s41577-019-0125-8.*
13. *Zheng L., Liu Q., Li R. et al. NLRP3 inflammasome activation induced by TCDD promotes lung inflammation and fibrosis // Science of the Total Environment. — 2023. — Vol. 859. — P. 160217. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.160217.*
14. *Schecter A., Birnbaum L., Ryan J.J., Constable J.D. Dioxins: an overview // Environmental Research. — 2006. — Vol. 101. — № 3. — P. 419–428. DOI: 10.1016/j.envres.2005.12.003.*
15. *Beck D., Nilsson E.E., Ben Maamar M., Skinner M.K. Environmental induced transgenerational inheritance impacts systems epigenetics in disease etiology // Scientific Reports. — 2022. — Vol. 12. — P. 6548. DOI: 10.1038/s41598-022-10365-8.*
16. *Rowlands J.C., Gustafsson J.A. Aryl hydrocarbon receptor-mediated signal transduction // Critical Reviews in Toxicology. — 1997. — Vol. 27. — № 2. — P. 109–134. DOI: 10.3109/10408449709021615.*
17. *Schmidt J.V., Bradfield C.A. Ah receptor signaling pathways // Annual Review of Cell and Developmental Biology. — 1996. — Vol. 12. — P. 55–89. DOI: 10.1146/annurev.cellbio.12.1.55.*
18. *Knerr S., Schrenk D. Carcinogenicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in experimental models // Molecular Nutrition & Food Research. — 2006. — Vol. 50. — № 10. — P. 897–907. DOI: 10.1002/mnfr.200600006.*
19. *Park J.S., Park S.M., Cho K.H. et al. Dioxin-induced oxidative stress and DNA damage in human cells // Free Radical Biology and Medicine. — 2021. — Vol. 162. — P. 412–422. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2020.10.026.*
20. *Senft A.P., Dalton T.P., Shertzer H.G. et al. Dioxin increases reactive oxygen production in mouse liver mitochondria // Toxicology and Applied Pharmacology. — 2002. — Vol. 185. — № 3. — P. 180–187. DOI: 10.1006/taap.2002.9531.*
21. *Polozhentsev S.D., Rumyantsev E.V., Turoverov K.K. Молекулярные механизмы взаимодействия диоксинов с арил-углеводородным рецептором // Биоорганическая химия. — 2019. — Т. 45. — № 3. — С. 243–257.*
22. *Золотов П.А., Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К. Окислительный стресс и диоксиновая интоксикация: механизмы повреждения ДНК // Токсикологический вестник. — 2021. — № 4. — С. 45–53.*
23. *Pilsner J.R., Lazarus A.L., Nam D.H. et al. Dioxin-induced epigenetic alterations in sperm: a cross-species comparison // Epigenetics. — 2018. — Vol. 13. — № 2. — P. 133–150.*
24. *Patrizi B., Siciliani de Cumis M. TCDD-induced DNA methylation changes in cancer-related genes // International Journal of Molecular Sciences. — 2022. — Vol. 23. — № 14. — P. 7620. DOI: 10.3390/ijms23147620.*
25. *Greathouse K.L., Bredfeldt T.G., Everitt J.I. et al. Environmental estrogens and dioxin differentially recruit histone methyltransferases to the CYP1A1 promoter // Molecular Endocrinology. — 2012. — Vol. 26. — № 10. — P. 1721–1733.*

26. *Esser C., Rannug A., Stockinger B. The aryl hydrocarbon receptor in immunity // Trends in Immunology. — 2009. — Vol. 30. — № 9. — P. 447–454. DOI: 10.1016/.2009.06.005.*
27. *Quintana F.J., Basso A.S., Iglesias A.H. et al. Control of T(reg) and T(H)17 cell differentiation by the aryl hydrocarbon receptor // Nature. — 2008. — Vol. 453. — № 7191. — P. 65–71. DOI: 10.1038/nature06880.*
28. *Pavuk M., Patterson D.G. Jr., Turner W.E., Needham L.L. Serum concentrations of TCDD and other dioxin-like chemicals in US Air Force veterans of Operation Ranch Hand // Chemosphere. — 2015. — Vol. 135. — P. 134–141.*
29. *Румянцев П.О., Саенко В.А., Ямасита С. Анализ онкологической заболеваемости у ликвидаторов с повышенным содержанием диоксинов в крови // Медицинская радиология и радиационная безопасность. — 2018. — Т. 63. — № 5. — С. 15–22.*
30. *Kogevinas M. Human health effects of dioxins: cancer, reproductive and endocrine endpoints // Human Reproduction Update. — 2001. — Vol. 7. — № 3. — P. 331–339. DOI: 10.1093/humupd/7.3.331.*
31. *Steenland K., Bertazzi P., Baccarelli A., Kogevinas M. Dioxin revisited: developments since the 1997 IARC classification of dioxin as a human carcinogen // Environmental Health Perspectives. — 2004. — Vol. 112. — № 13. — P. 1265–1268. DOI: 10.1289/ehp.7219.*
32. *Sofronov G.A., Rembovsky V.R., Radilov A.S. et al. Influence of polymorphisms of xenobiotic metabolism genes on health status of personnel working with toxic chemicals // Military Medical Journal. — 2015. — Vol. 336. — № 2. — P. 45–52.*
33. *Авалиани С.Л., Буштуева К.А., Андрианова М.М. Оценка канцерогенного риска от воздействия диоксинов для населения промышленных городов // Гигиена и санитария. — 2020. — Т. 99. — № 2. — С. 148–153.*
34. *Viluksela M., Heiskanen K., Tuomisto J.T. et al. Transgenerational effects of maternal TCDD exposure on reproductive health and carcinogenesis in rats // Toxicology and Applied Pharmacology. — 2020. — Vol. 394. — P. 114942. DOI: 10.1016/j.taap.2020.114942.*
35. *Mothersill C., Seymour C. Bystander effects and radiotherapy: What the evidence tells us about low dose risks // International Journal of Radiation Biology. — 2016. — Vol. 92. — № 6. — P. 293–300.*
36. *Anway M.D., Cupp A.S., Uzumcu M., Skinner M.K. Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility // Science. — 2005. — Vol. 308. — № 5727. — P. 1466–1469. DOI: 10.1126/science.1108190.*
37. *Safe S., Han H., Goldsby J. et al. Aryl hydrocarbon receptor (AhR) antagonists as cancer chemopreventive agents // Oncogene. — 2021. — Vol. 40. — P. 4777–4791.*
38. *Smith K.J., Murray I.A., Tanos R. et al. Targeting the AhR for cancer therapy // Current Pharmacology Reports. — 2017. — Vol. 3. — P. 51–63.*
39. *Белоусов Ю.Б., Моисеев В.С., Лепахин В.К. Клиническая фармакология и фармакотерапия: руководство для врачей. — 4-е изд. — М.: Медицинское информационное агентство, 2020. — 976 с.*
40. *Vogel C.F.A., Van Winkle L.S., Esser C., Haarmann-Stemmann T. The aryl hydrocarbon receptor as a target of environmental stressors – Implications for pollution-mediated stress and inflammatory responses // Redox Biology. — 2020. — Vol. 34. — P. 101530. DOI: 10.1016/j.redox.2020.101530.*

41. *Кубасов А.А., Аликбаева Л.А., Федоров В.Н. и др. Обоснование системы биомониторинга и стратификации рисков у ветеранов войн с экспозицией фитотоксикантов // Медицина труда и промышленная экология. — 2022. — Т. 62. — № 5. — С. 310–318. DOI: 10.31089/1026-9428-2022-62-5-310-318.*
42. *Онищенко Г.Г., Кубасов А.А., Сафронов Г.А. Оценка генетического полиморфизма ферментов биотрансформации ксенобиотиков у лиц, подвергшихся воздействию «Agent Orange» // Гигиена и санитария. — 2021. — Т. 100. — № 9. — С. 954–960.*
43. *Уйба В.В., Романович И.К., Горский А.А. Методология оценки рисков отдаленных последствий воздействия диоксинов на персонал химически опасных объектов и население // Радиационная гигиена. — 2019. — Т. 12. — № 4. — С. 87–96.*
44. *Рахманин Ю.А., Ле Чи Минь, Нгуен Тхи Хонг и др. Трансгенерационные эффекты экспозиции диоксинами: результаты российско-вьетнамского клинико-эпидемиологического мониторинга // Токсикологический вестник. — 2023. — № 3. — С. 22–30.*
45. *Саенко В.А., Пантелеев И.В., Ямасита С. Молекулярно-генетические маркеры индивидуальной чувствительности к диоксин-индуцированному канцерогенезу // Молекулярная медицина. — 2020. — Т. 18. — № 1. — С. 3–10.*
46. *Consonni D., Pesatori A.C., Tironi A. et al. Mortality in the Seveso population, 1976–2018: an update on cancer and non-cancer outcomes // Environmental Health Perspectives. — 2023. — Vol. 131. — № 2. — P. 027008. DOI: 10.1289/EHP11507.*
47. *Steenland K., Barry V., Anttila A. et al. Cancer incidence among workers with occupational exposure to dioxins: an updated analysis of the NIOSH cohort // Occupational and Environmental Medicine. — 2022. — Vol. 79. — № 4. — P. 221–228. DOI: 10.1136/oemed-2021-107893.*
48. *Kogevinas M., Becher H., Benn T. et al. Cancer mortality in workers exposed to phenoxy herbicides, chlorophenols, and dioxins: an expanded and updated international cohort study (IARC) // American Journal of Epidemiology. — 2020. — Vol. 191. — № 7. — P. 1250–1265.*
49. *Буштуева К.А., Авалиани С.Л., Андрианова М.М. Популяционный канцерогенный риск от воздействия стойких органических загрязнителей в промышленных городах России // Гигиена и санитария. — 2022. — Т. 101. — № 3. — С. 208–215. DOI: 10.47470/0016-9900-2022-101-3-208-215.*
50. *Приказ Министерства здравоохранения РФ от 13.03.2019 г. № 124н «Об утверждении порядка проведения профилактического медицинского осмотра и диспансеризации определенных групп взрослого населения» (с изменениями и дополнениями).*

* * *

ПИЩЕВЫЕ ВОЛОКНА В ПРОФИЛАКТИЧЕСКОМ И ЛЕЧЕБНО-ОЗДОРОВИТЕЛЬНОМ ПИТАНИИ ОТДЕЛЬНЫХ ГРУПП НАСЕЛЕНИЯ

Кузьмина А.Ю.

Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, Москва

Введение. Термин «пищевые (диетические) волокна» впервые предложил ученый из Австралии Eben H. Hipsley в 1955 г. для обозначения неперевариваемых компонентов растительной клетки (целлюлоза, гемицеллюлоза, лигнин), устойчивых к гидролизу пищеварительными ферментами человека [1]. Он изучил влияние этого диетического фактора на развитие токсемии у беременных, поскольку в предшествующих работах была показана связь между особенностями питания беременных женщин и возникновением токсемии и неонатальной смертности. С появлением этой новой научной темы стали постепенно накапливаться знания о пользе пищевых волокон в питании человека.

В 1976 году к пищевым волокнам были отнесены неперевариваемые полисахариды (в основном запасные вещества растений), такие как камеди, модифицированная целлюлоза, слизи, олигосахариды и пектины [2]. В последующем классификация пищевых волокон была расширена с учетом их химических и физиологических свойств, устойчивости к перевариванию. В 1995 году в этот состав были включены олигосахариды устойчивые к перевариванию.

Пищевые волокна – высокомолекулярные химические соединения, относящиеся к сложным углеводам (полисахаридам), образованные из большого числа мономеров глюкозы и других моносахаров, входящие в состав растительных пищевых продуктов и не перевариваются в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ). Пищевые волокна могут расщепляться в толстом кишечнике только частично при участии микрофлоры кишечника. К неферментируемым относят лигнин, частично ферментируемым – целлюлозу (на 30-40%), гемицеллюлозу (60-80%). Ферментируемые почти полностью – пектин (95%), камеди, слизи. Синонимами «пищевые волокна» являются термины «растительные волокна», «клетчатка», «балластные вещества», «неусвояемые углеводы» и др. На сегодняшний день пищевые волокна рассматривают как один из важнейших компонентов рационального питания. Суточная потребность в пищевых волокнах составляет не менее 20-35 г в стуки [3].

Цель. Изучить содержание пищевых волокон в фактическом питании пилотов старшей возрастной группы (55 лет и старше) в сравнении с курсантами выпускного курса одного из учебных заведений гражданской авиации и авимедицинских работников, а также уточнить значение пищевых волокон в полноценном питании человека.

Материалы и методы. Проведено выборочное (путем случайного выбора) добровольное анонимное анкетирование 173 пилотов гражданской авиации (основная группа), проходящих плановое стационарное обследование в ФБУ «Центральной клинической больницы гражданской авиации» (г. Москва) по достижении возраста 55 лет и старше. Полученные данные были сопоставлены с результатами анкетирования двух групп сравнения. Группа сравнения № 1 была представлена 32 курсантами 3-го (выпускного) курса одного из университетов гражданской авиации. Группа сравнения №2 – 38 меди-

цинских работников учреждений гражданской авиации, из них 21 человек – врачи (средний возраст 47,4±2,2 лет) и 17 средних медицинских работника (средний возраст 39,1±2,8 лет), обучающихся на кафедре авиационной и космической медицины в этот же период.

Содержание пищевых волокон оценивали при сборе диетологических сведений с помощью стандартной анкеты-опросника «Суточная диетическая форма» (частотная таблица), разработанной в лаборатории питания Государственного научно-исследовательского Центра профилактической медицины МЗ РФ для популяционных исследований фактического питания в России (Халтаев Н.Г., Деннис Б., 1976). С помощью специально построенной математической модели (разработчик ГУ НИИ терапии СО РАМН, к.б.н. Е.Г. Веревкин) и таблиц химического состава пищевых веществ [3] была получена информация о содержании в суточных рационах питания основных питательных веществ, в том числе гемицеллюлозы, клетчатки, пектина (г/день). Полученные результаты сопоставляли с Нормами физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации (МР 2.3.1.0253-21).

Результаты и обсуждение. Пищевые волокна в суточных рационах питания опрошенных были в достаточных количествах (Таблица 1). У пилотов гражданской авиации их суточное поступление было выше, чем у курсантов и составило – 40,83 ± 1,75 г и 28,17 ± 2,71 г соответственно ($p < 0,05$). Отмечена тенденция к различию этого показателя у курсантов в сравнении с авиамедицинскими работниками – 41,18 ± 4,06 г ($p = 0,51$).

Таблица 1.

Суточное потребление пищевых волокон (M±m) у пилотов гражданской авиации старшей возрастной группы, курсантов лётных учебных заведений гражданской авиации и авиамедицинских работников

Показатель	Фактические показатели			Рекомендуемы нормы [4]
	Пилоты гражданской авиации (n=173)	Курсанты учебных заведений гражданской авиации (n=32)	Авиамедицинские работники (n=38)	Российские нормы для населения
Пищевые волокна, г/сут	40,83 ± 1,75	28,17 ± 2,71*	41,18 ± 4,06 г	20-25

*Примечание: достоверность различий по сравнению с пилотами – *p < 0,05*

В структуре потребляемых продуктов у опрошенных лиц поступление круп, молока и молочных продуктов, овощей и бахчевых соответствовало рациональным нормам потребления. Пониженным было употребление картофеля и растительного масла. Повышенным можно считать потребление хлеба и хлебопродуктов, бобовых, фруктов и ягод, сахара и соли. Использование яиц зафиксировано меньше предложенных рациональных норм, но приближено к общепринятым кардиологическим рекомендациям по профилактике сердечно-сосудистых заболеваний.

Таким образом, содержание балластных веществ в пище у респондентов, в целом, соответствовало физиологическим потребностям взрослого человека. Нормальным считают содержание пищевых волокон в пище не менее 20 г в сутки [4], а по некоторым данным – до 25–35 г в сутки [5]. В то время как для питания большинства жителей Российской Федерации характерны недостаточное поступление с пищей сложных углеводов и низкое содержание клетчатки в питании [6-8].

Пищевые волокна выполняют в организме ряд важнейших функций. Гидрофильные полисахариды (пектин, камеди, слизи, альгинаты, инулин и др.) активно впитывают воду с образованием геля. Он увеличивает объем пищи и пищевого комка, создавая ощущение насыщения. А также замедляет секрецию желудочного сока, подавляет эвакуаторную функцию желудка, снижает всасывание в тонкой кишке простых углеводов и жиров. Это способствует нормализации массы тела, улучшению метаболического профиля, уменьшению риска развития атеросклероза. Так, ежедневное добавление 15 г пектина или гуаровой камеди приводит к снижению уровня холестерина в крови на 15–21% [9].

Водонерастворимая пищевая клетчатка (целлюлоза, лигнин, некоторые гемицеллюлозы) увеличивает объем каловых масс и стимулирует моторно-эвакуаторную функцию ЖКТ, улучшая пассаж по толстому кишечнику. Употребление продуктов, богатых пищевыми волокнами, предупреждает развитие запоров, рака толстой кишки и ряда других заболеваний кишечника (дивертикулов, геморроя и др.).

Растительная клетчатка (гемицеллюлоза и целлюлоза) является питательной средой для микробионтов – бифидо- и лактобактерии. При частичной или полной ферментации полисахаридов нормальной микрофлорой толстой кишки образуются метаболиты – короткоцепочечные жирные кислоты (уксусная, пропионовая, масляная), которые принимают участие в обменных процессах слизистой толстой кишки, а также газы (углекислый, водород, метан) и энергия. Короткоцепочечных жирные кислоты способствуют нормализации моторики кишечника, поддержанию нормального микробиоценоза в кишечнике и обладают сорбционными свойствами, опосредованно снижая уровень холестерина и влияя на процессы переваривания и усвоения пищи. Пектины подавляют гнилостные процессы в кишечнике, уменьшают газообразование и способствуют эпителизации слизистой кишечника. Короткоцепочечные жирные кислоты, выделяющиеся при метаболизме растворимых пищевых веществ, активируют микрофлору толстой кишки и кишечную перистальтику наряду со снижением pH в толстой кишке. Пребиотическими свойствами обладают гуммиарабик, инулин, полидекстроза.

Мягкие пищевые волокна (пектины, камеди, декстрины, гуар) обволакивают слизистую кишечника, замедляя всасывание сахара и жира (в т.ч. холестерина) после приема пищи. При их употреблении улучшается гликемический и липидный спектр крови. Пищевые волокна (гуар, целлюлоза, пектин, лигнин) также способны сорбировать тяжелые металлы, токсины, радионуклиды, желчные кислоты, способствуя их элиминации (энтеросорбция).

Лигнины – безуглеводные вещества клеточных оболочек, состоящие из полимеров ароматических спиртов (полифенолов). Они не растворимы в воде и придают жесткость оболочкам растительной клетки. Содержатся преимущественно в зерновых и бобовых продуктах, семенах и отрубях. При хранении овощей (баклажаны, зеленые бобы, редис и др.) содержание лигнина в них увеличивается, но они хуже усваиваются. Лигнины

также могут сорбировать соли желчных кислот, холестерин и другие органические вещества, замедляя или нарушая их абсорбцию. Он также обладает антиоксидантными свойствами.

Таким образом, пищевые волокна нормализуют деятельность ЖКТ, улучшают обменные процессы и оказывают детоксицирующее воздействие. Потребление пищевых волокон в количестве 30 г/сут приводит к снижению риска возникновения сердечного приступа на 55% по сравнению с лицами, употребляющими диетические волокна 12 г/сут. При недостатке их поступления повышается риск развития ряда заболеваний – ожирения, сахарного диабета, атеросклероза (в т.ч. ИБС), заболеваний толстой кишки (запоры, дивертикулез, рак).

Ограничивают употребление грубых пищевых волокон при острых заболеваниях ЖКТ или в период их обострения, в пред- и послеоперационном периоде, при лактации, недостаточности кровообращения и у спортсменов в период соревнований, у летного состава в период полетов. Увеличивают их содержание – при атеросклеротических процессах, ожирении, сахарном диабете 2 типа, запорах функционального характера и др. Следует учитывать, что избыточное потребление клетчатки сопровождается снижением усвояемости белков, жиров, витаминов и минералов – на 5-15%.

По данным ВОЗ физиологическая потребность взрослого человека в этих веществах составляет не менее 30 г в сутки (США – 25-38 г/сут) или 10-15 г/1000 ккал. Грубые пищевые волокна или неусвояемые углеводы (целлюлоза, гемицеллюлоза, лигнин) и мягкие пищевых волокна (пектины, камеди, слизи) должны содержаться в равных количествах, т.е. примерно по 15 г/сут.

Заключение. Пищевые волокна – высокомолекулярные полимерные соединения из остатков моносахаридов, которые не способные расщепляться протеолитическими ферментами пищеварительного тракта, но подвергающиеся полной или частичной ферментации толстокишечной микрофлорой. Основными их представителями являются целлюлоза, гемицеллюлоза, пектиновые вещества, лигнин и связанных с ними белковые вещества, формирующие клеточные стенки растений. Полисахариды содержатся преимущественно в растительных продуктах – бобовые, зерновые, орехи, а также фрукты, овощи и ягоды. При технологической очистке сырья (рафинировании) содержание пищевых волокон уменьшается – чем выше степень очистки, тем их меньше. Больше клетчатки в отрубях, непросеянной муке, ржаном и цельнозерновом хлебе, крупах с оболочками, орехах, неочищенных от кожуры фруктах. Меньше – в хлебе из муки тонкого помола, макаронах и крупах, очищенных от оболочек (шлифованный рис и др.).

Выводы.

1. Пищевые волокна имеют важное значение в профилактическом и лечебно-оздоровительном питании как населения в целом, так и отдельных его групп.

2. Поддержание содержания пищевых волокон в пище на нормальном уровне является одним из принципов рационального питания.

3. Поступление пищевых волокон в суточных рационах питания у опрошенных было достаточным – от 25,46 до 45,24 г. У пилотов гражданской авиации (40,83 ± 1,75 г) их потребление было выше, чем у курсантов (28,17 ± 2,71 г; $p < 0,05$).

Список литературы:

1. *Hipsley, E.H. (1953) Dietary Fiber and Pregnancy Toxaemia. British Medical Journal, 2, 420-422. http://dx.doi.org/10.1136/bmj.2.4833.420*
2. *Devries J.W., Prosky L., Li B., Cho S. A Historical Perspective on Defining Dietary Fiber*
3. *Химический состав российских продуктов питания: Справочник /Под ред. член-корр МАИ, проф. И.М. Скурихина и академика РАМН, проф. В.А. Тутельяна. – М.: ДеЛи принт, 2002. – 236 с.*
4. *МР 2.3.1.0253-21 «Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации»*
5. *Пырьева Е. А. Роль и место пищевых волокон в структуре питания населения / Е. А. Пырьева, А. И Сафронова // Вопросы питания. – 2019. – № 88 (6). – С. 5–11.*
6. *Круч О.Н., Турчанинов Д.В., Вильмс Е.А., Ширлина Н.Г. Распространённость факторов риска онкопатологии среди жителей Омской области. Фундаментальная и клиническая медицина. 2023;8(2): 77-86. https://doi.org/10.23946/2500-0764-2023-8-2-77-86*
7. *Драпкина О. М., Карамнова Н. С., Концевая А.В., Горный Б. Э., Дадаева В.А., Дроздова Л.Ю., Еганян Р.А., Елиашевич С.О., Измайлова О.В., Лавренова Е.А., Лищенко О.В., Скрипникова И.А., Швабская О.Б., Шишкова В. Н. Российское общество профилактики неинфекционных заболеваний (РОПНИЗ). Алиментарно-зависимые факторы риска хронических неинфекционных заболеваний и привычки питания: диетологическая коррекция в рамках профилактического консультирования. Методические рекомендации. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2021;20(5):2952. doi:10.15829/1728-8800-2021-2952*
8. *Тафеева Е.А., Фролов Д.Н., Янгирова Э.Х., Фролова О.А. Гигиеническая оценка фактического питания и физической активности в комплексе мер профилактики алиментарно-зависимых заболеваний у женщин старшего возраста // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2025. №3. Публикация 2-1. URL: http://www.vnmt.ru/Bulletin/E2025-3/2-1.pdf (дата обращения: 26.05.2025). DOI: 10.24412/2075-4094-2025-3-2-1*
9. *Погожева А. В., Дербенева С. А. Диетологическая коррекция гиперхолестеринемии. Лечащий врач. 2009. №2. С.22-26*

* * *

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ТКАНЕВОЙ ГИПОКСИИ КАК СТРАТЕГИЯ ПРОДЛЕНИЯ АКТИВНОГО ДОЛГОЛЕТИЯ: СИСТЕМАТИЧЕСКИЙ ОБЗОР

Лаптев М.В., Ренев Я.Н.
Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Аннотация. *Цель работы — систематизировать данные клинических исследований фармакологической коррекции тканевой гипоксии как стратегии продления активного долголетия. Методика — систематический обзор литературы в базах PubMed, Google Scholar, eLibrary за 2022–2026 гг. с включением РКИ, систематических обзоров и мета-анализов. Контингент — данные 15 исследований, включавших пациентов старших возрастных групп (средний возраст 63–72 года) с хронической ишемией мозга, постковидным синдромом, а также здоровых добровольцев в условиях моделируемой гипоксии. Результаты: MitoQ улучшает эндотелиальную функцию, но не дает убедительного улучшения физической функции; альфа-кетоглутарат имеет солидную доклиническую базу, клинические данные накапливаются; адаптогены (Rhodiola crenulata, женьшень) демонстрируют антигипоксический эффект, но требуют стандартизации; Мексидол и Цитофлавин улучшают когнитивные функции и качество жизни у пожилых. Обсуждается трансляционный разрыв между доклиникой и клиникой.*

Ключевые слова: *антигипоксанты, адаптогены, митохондриальные антиоксиданты, тканевая гипоксия, геропротекторы.*

Введение. Современная демографическая ситуация характеризуется неуклонным ростом продолжительности жизни: по данным ВОЗ, к 2050 году доля населения старше 60 лет достигнет 22%, что сопровождается увеличением бремени возраст-ассоциированных заболеваний. Ключевой задачей геронтологии становится не просто увеличение общей продолжительности жизни (lifespan), а продление периода активного долголетия (healthspan) — времени, в течение которого человек сохраняет физическую и когнитивную функцию, качество жизни и социальную активность.

Одним из универсальных патогенетических механизмов старения является развитие тканевой гипоксии. С возрастом снижается доставка кислорода к органам и тканям, уменьшается парциальное давление кислорода, что активирует клеточные сигнальные пути, опосредованные гипоксия-индуцируемым фактором (HIF). HIF регулирует экспрессию тысяч генов, участвующих в ангиогенезе, метаболизме, воспалении и апоптозе. Возрастные изменения толерантности к гипоксии и экспрессии HIF связаны с молекулярными путями, опосредованными инсулином и IGF-1 (IIS), сиртуинами (SIRTs) и mTOR [1]. Митохондриальная дисфункция и окислительный стресс, обусловленные избыточной продукцией активных форм кислорода (АФК) в митохондриях, являются ключевыми звеньями, связывающими гипоксию и старение [2].

В этой связи фармакологическая коррекция тканевой гипоксии рассматривается как перспективная стратегия продления активного долголетия. Выбор групп средств для анализа обусловлен наличием завершенных или активно проводимых клинических исследований на людях (в отличие от многих доклинических геропротекторов, на-

пример, рапамицина или сенолитиков), а также их прямым воздействием на ключевые механизмы гипоксии — митохондриальный окислительный стресс (MitoQ), метаболическую и эпигенетическую регуляцию (альфа-кетоглутарат), адаптационную резистентность (растительные адаптогены) и коррекцию энергетического обмена (Мексидол, Цитофлавин) [3]. В настоящем обзоре систематизированы данные современных клинических исследований указанных групп средств.

Цель. Систематизировать и обобщить данные современных клинических исследований фармакологических подходов к коррекции тканевой гипоксии как потенциальной стратегии продления активного долголетия.

Материалы и методы. Поиск литературы проводился в базах данных PubMed, Google Scholar, eLibrary за период 2022–2026 гг. с использованием следующих ключевых слов: *tissue hypoxia, aging, geroprotectors, mitochondria-targeted antioxidants, alpha-ketoglutarate, adaptogens, Rhodiola, ginseng, Mexidol, Cytoflavin, clinical trial, systematic review*. Исключались исследования на животных (кроме трансляционных работ с параллельными данными на людях), работы без клинических исходов, публикации до 2022 года, статьи об острой гипоксии (инсульт, инфаркт, травма). Проанализировано 62 источника, в обзор включено 15 наиболее релевантных.

Результаты и обсуждение. Митохондриально-направленные антиоксиданты (MitoQ). MitoQ представляет собой убихинон, ковалентно связанный с трифенилфосфонием, что обеспечивает его избирательное накопление в митохондриях. Соединение нейтрализует супероксид, снижает окислительный стресс и улучшает эндотелиальную функцию. В исследовании Carlini N.A. и соавт. (2024) острый прием MitoQ улучшал эндотелиальную функцию (FMD) у людей среднего и пожилого возраста, причем эффект зависел от исходного кардиореспираторного статуса и базального уровня FMD [4].

Трансляционное исследование Murray K.O. и соавт. (2026) выявило расхождения между доклиническими моделями и клиническими данными: у мышей MitoQ улучшал силу и координацию, однако у людей при длительном приеме убедительных эффектов на моторную функцию не наблюдалось [5]. Отсутствие эффекта у людей может быть обусловлено недостаточной продолжительностью приема, неоптимальной дозировкой, особенностями биодоступности, гетерогенностью исходного уровня окислительного стресса, а также возможной сигнальной функцией митохондриальных АФК.

Важно отметить ограничения включенных исследований: малый размер выборки (n=20 и n=16), отсутствие ослепления в трансляционной части, краткосрочность наблюдения (до 12 недель). Эти факторы ограничивают обобщаемость результатов. Таким образом, MitoQ демонстрирует острые позитивные эффекты на сосудистую функцию, но долгосрочные преимущества для физической функции у людей требуют дальнейшего изучения в более крупных РКИ.

Метаболические геропротекторы: альфа-кетоглутарат (AKG). AKG является ключевым метаболитом цикла Кребса, участвует в окислительном декарбоксилировании аминокислот, служит субстратом для синтеза глутамата и коллагена. Как антиоксидант, AKG влияет на азотистый и аммиачный баланс, эпигенетическую и иммунную регуляцию. Эти плейотропные функции AKG оказывают благоприятное действие при заболеваниях сердца, мозга, печени и скелетных мышц [6].

В обзорах Gyanwali B. и соавт. (2022) и Naeini S.H. и соавт. (2023) обсуждается геропротективный потенциал AKG, его влияние на метаболизм, эпигенетику и иммунитет,

а также способность увеличивать продолжительность жизни в доклинических моделях. Подчеркивается необходимость дальнейших клинических исследований для подтверждения этих эффектов у человека [6, 7].

Клинический протокол ABLE (Sandalova E. и соавт., 2023) представляет собой двойное слепое плацебо-контролируемое РКИ с участием 120 здоровых людей среднего возраста (40–60 лет) с ускоренным эпигенетическим возрастом. Участники получают 1 г кальциевой соли AKG пролонгированного высвобождения или плацебо в течение 6 месяцев с последующим 3-месячным наблюдением. Первичная конечная точка — изменение эпигенетического возраста (метилирование ДНК), вторичные — физическая функция, когнитивные показатели, качество жизни, биомаркеры воспаления и окислительного стресса [8]. Оценка набора участников (Lim Z.M. и соавт., 2025) подтвердила осуществимость подобных интервенций [9].

Таким образом, AKG является перспективным геропротектором с солидной доклинической базой, однако результаты РКИ на людях ожидаются, что ограничивает доказательную базу.

Адаптогены с антигипоксическим действием. Адаптогены — растения, повышающие неспецифическую резистентность организма к стрессовым факторам, включая гипоксию. В РКИ Lee S.Y. и соавт. (2023) было показано, что прием экстракта *Rhodiola crenulata* достоверно улучшает сатурацию кислорода и когнитивные функции в условиях гипоксии. Авторы предположили, что родиола может улучшать когнитивные функции в условиях гипоксии за счет повышения насыщения крови кислородом [10].

Систематический обзор и мета-анализ Szymańska A. и соавт. (2024) показали, что добавки женьшеня могут оказывать положительное влияние на физическую выносливость, что, в свою очередь, способствует защите сердечно-сосудистой системы. Однако авторы отмечают неоднородность дизайнов исследований, различия в дозировках и стандартизации экстрактов [11].

Таким образом, растительные адаптогены демонстрируют антигипоксический эффект и улучшение физической/когнитивной функции, но существующие исследования характеризуются малым размером выборок, короткой продолжительностью и отсутствием единых подходов к стандартизации препаратов, что требует проведения крупных многоцентровых РКИ.

Клинические исследования антигипоксантов (Мексидол, Цитофлавин). Отдельного внимания заслуживают препараты с доказанной клинической эффективностью, широко применяемые в отечественной практике для коррекции гипоксических состояний у пациентов старших возрастных групп.

Мексидол (этилметилгидроксипиридина сукцинат) — производное 3-оксипиридина с антиоксидантными, антигипоксическими и мембранопротекторными свойствами, улучшающее энергетический метаболизм и восстанавливающее функцию митохондрий.

В субанализе международного РКИ MEMO (Захаров В.В. и соавт., 2023) у пациентов с хронической ишемией мозга терапия Мексидолом (300–600 мг/сут, 8 недель) достоверно улучшала когнитивные функции (MoCA), эмоциональный статус (HADS) и качество жизни [12]. Доклиническое исследование Plisko G.A. и соавт. (2025) подтвердило антиоксидантные механизмы препарата на модели интермиттирующей гипоксии [13].

Цитофлавин — комбинированный препарат (янтарная кислота, инозин, никотинамид, рибофлавин), синергично влияющий на энергообразование и тканевое дыхание.

В исследовании Болотовой Е.В. и соавт. (2024) у пожилых пациентов (n=80, средний возраст 72,4 года) после COVID-19 Цитофлавин в составе реабилитации уменьшал астению, улучшал когнитивные функции и качество жизни [14]. Терешин А.Е. и соавт. (2022) показали эффективность Цитофлавина для коррекции митохондриальной дисфункции при поствирусной астении [15].

Таким образом, Мексидол и Цитофлавин представляют собой клинически апробированные антигипоксанты с доказанной эффективностью у пациентов старших возрастных групп. Их применение направлено на коррекцию ключевых механизмов тканевой гипоксии — митохондриальной дисфункции и окислительного стресса — и способствует сохранению когнитивных функций и качества жизни, что является важным компонентом стратегии активного долголетия. Сводная характеристика клинических исследований, включённых в систематический обзор, представлена на рисунке 1.

Препарат / вмешательство	Дизайн	Выборка (n, возраст)	Конечные точки	Основные результаты	Уровень доказательности	Ссылка
MitoQ (160 мг однократно)	Рандомизированное перекрестное, плацебо-контролируемое	n=20, 63 года	FMD через 2 ч	↑ FMD (зависит от исходного уровня и VO_2max)	IIa	[4]
MitoQ (12 нед)	Трансляционное (мыши + люди), плацебо-контролируемое	Мыши (n=НД) + люди n=16, 65–80 лет	Сила хвата, скорость ходьбы, баланс	У мышей ↑ сила и координация; у людей — эффекта нет	IIb	[5]
Rhodiola crenulata (1200 мг/сут, 14 дн)	Рандомизированное перекрестное, плацебо-контролируемое	n=24, 27,5 лет	SpO_2, когнитивные функции (внимание, скорость реакции)	↑ SpO_2 и когнитивные функции в условиях гипоксии	IIa	[10]
Женьшень (добавки)	Систематический обзор + мета-анализ 14 РКИ	835 участников	VO_2max, время до истощения	Умеренное ↑ физической выносливости	Ia	[11]
Мексидол (300-600 мг/сут, 8 нед)	Субанализ РКИ МЕМО (плацебо-контролируемое)	Пациенты с ХИМ и АГ (n в субанализе НД)	MoCA, HADS, качество жизни	↑ когнитивных функций, ↓ тревоги/депрессии, ↑ качества жизни	Ib	[12]
Цитофлавин (в составе реабилитации)	Открытое сравнительное проспективное	n=80, 72,4 года	Астения, когнитивные функции, качество жизни	↓ астении, ↑ когнитивных функций и качества жизни	IIb	[14]
Цитофлавин (внутривенно, курс)	Открытое	n=42 (постковидный синдром)	Выраженность астении, маркеры митохондриальной дисфункции	↓ астении, коррекция митохондриальной дисфункции	IIb	[15]

Рис.1.
Клинические исследования фармакологических стратегий коррекции тканевой гипоксии
Примечание: FMD — flow-mediated dilation (эндотелийзависимая вазодилатация); ХИМ — хроническая ишемия мозга; АГ — артериальная гипертензия; MoCA — Монреальская шкала оценки когнитивных функций; HADS — Госпитальная шкала тревоги и депрессии; НД — нет данных

Заключение.

Фармакологическая коррекция гипоксии — перспективная стратегия продления активного долголетия, однако клинические данные неоднородны. MitoQ дают острый сосудистый эффект, но долгосрочные преимущества не подтверждены. AKG имеет солидную доклиническую базу; результаты ABLE определят его геропротективный потенци-

ал. Адаптогены (*Rhodiola crenulata*, женьшень) эффективны, но требуют стандартизации и крупных РКИ. Мексидол и Цитофлавин улучшают когнитивные функции, эмоциональный статус и качество жизни у пожилых пациентов с хронической ишемией мозга и в реабилитационный период после тяжёлых инфекций, подтверждая клиническую значимость антигипоксической терапии.

Выводы.

1. Тканевая гипоксия является значимым патогенетическим звеном старения и возраст-ассоциированных заболеваний, что делает ее молекулярные механизмы (HIF, митохондриальная дисфункция, окислительный стресс) мишенью фармакологической коррекции.

2. Митохондриально-направленный антиоксидант MitoQ улучшает эндотелиальную функцию у людей среднего и пожилого возраста, однако хронический прием не показал убедительного улучшения физической функции в исследовании Murray et al. (2026), что может быть обусловлено малым размером выборки, гетерогенностью участников и недостаточной продолжительностью наблюдения.

3. Альфа-кетоглутарат, согласно доклиническим данным, модулирует ключевые сигнальные пути старения (эпигенетическую регуляцию, метаболизм, иммунитет); клинический протокол ABLE позволит оценить его геропротективный потенциал у людей, однако завершенных РКИ с клиническими исходами на сегодняшний день не опубликовано.

4. Растительные адаптогены — *Rhodiola crenulata* и женьшень — демонстрируют антигипоксический эффект и улучшение физической/когнитивной работоспособности, однако существующие исследования характеризуются малыми выборками, короткой продолжительностью и отсутствием унифицированных протоколов, что требует проведения крупных многоцентровых РКИ.

5. Мексидол и Цитофлавин, согласно результатам клинических исследований, обладают доказанной эффективностью в улучшении когнитивных функций, эмоционального статуса и качества жизни у пациентов старших возрастных групп, что подтверждает целесообразность их применения в рамках стратегии активного долголетия.

6. Трансляционный разрыв между доклиническими моделями и клиническими исследованиями остается ключевым вызовом; необходимы унифицированные протоколы, биомаркеры старения и долгосрочные наблюдения для валидации геропротективных стратегий.

Список литературы:

1. *Dzhalilova D.S., Makarova O.V. The role of hypoxia-inducible factor in the mechanisms of aging // Biochemistry (Moscow). – 2022. – Vol. 87, № 9. – P. 995-1014.*
2. *Mironova E., Kvetnoy I., Balazovskaia S. et al. Mitochondria and Aging: Redox Balance Modulation as a New Approach to the Development of Innovative Geroprotectors (Fundamental and Applied Aspects) // International Journal of Molecular Sciences. – 2026. – Vol. 27, № 2. – P. 842.*
3. *Moskalev A.A. Potential geroprotectors – from bench to clinic // Biochemistry (Moscow). – 2023. – Vol. 88, № 11. – P. 1732-1738.*
4. *Carlini N.A., Harber M.P., Fleenor B.S. Acute effects of MitoQ on vascular endothelial function are influenced by cardiorespiratory fitness and baseline FMD in middle-aged and older adults // The Journal of Physiology. – 2024. – Vol. 602, № 9. – P. 1923-1937.*

5. *Murray K.O., Gioscia-Ryan R.A., Justice J.N. et al. Translational studies of chronic supplementation with a mitochondria-targeted antioxidant to improve physical function with ageing // The Journal of Physiology. – 2026. – Vol. 604, № 7. – P. 2898-2922.*
6. *Gyanwali B., Lim Z.X., Soh J. et al. Alpha-Ketoglutarate dietary supplementation to improve health in humans // Trends in Endocrinology & Metabolism. – 2022. – Vol. 33, № 2. – P. 136-146.*
7. *Naeini S.H., Mavaddatiyan L., Kalkhoran Z.R. et al. Alpha-ketoglutarate as a potent regulator for lifespan and healthspan: Evidences and perspectives // Experimental Gerontology. – 2023. – Vol. 175. – P. 112154.*
8. *Sandalova E., Goh J., Lim Z.X. et al. Alpha-ketoglutarate supplementation and BiologicaL agE in middle-aged adults (ABLE)—intervention study protocol // GeroScience. – 2023. – Vol. 45, № 5. – P. 2897-2907.*
9. *Lim Z.M., Chew Y.E., Guan L. et al. Recruitment evaluation of a gerotherapeutic randomized controlled trial testing alpha-ketoglutarate in biologically older, middle-aged adults (ABLE) // Experimental Gerontology. – 2025. – P. 112867.*
10. *Lee S.Y., Lin K.T., Chen Y., Dai Y.H. Rhodiola crenulata extract supplement significantly attenuates hypoxia-reduced oxygen saturation and cognitive function // Journal of Herbal Medicine. – 2023. – Vol. 41. – P. 100732.*
11. *Szymańska A., Kujawska A., Kujawski S. et al. Effect of ginseng supplementation on exercise endurance as a support for cardiovascular disease management: A systematic review and Meta-analysis // Antioxidants. – 2024. – Vol. 14, № 1. – P. 32.*
12. *Zakharov V.V., Sokolov A.V., Chikina M.N. et al. International multicenter randomized double-blind placebo-controlled study assessing the efficacy and safety of sequential therapy with Mexidol® and Mexidol® FORTE 250 in patients with chronic brain ischemia (MEMO): subanalysis in patients with arterial hypertension // Therapy. – 2023. – Vol. 9, № 1. – P. 145-159.*
13. *Plisko G.A., Okovityi S.V., Ivkin D.Y. et al. Efficacy of ethylmethylhydroxypyridine succinate derivative in a model of intermittent hypoxia in comparison with the reference drug // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2025. – Vol. 14, № 4. – P. 261-269.*
14. *Bolotova E.V., Svyatova G.V., Kuznetsov A.N. et al. The effectiveness of Cytoflavin in the medical rehabilitation of elderly and senile patients // Terapevticheskii arkhiv. – 2024. – Vol. 96, № 11. – P. 1063-1068.*
15. *Tereshin A.E., Kiryanova V.V., Reshetnik D.A. Correction of mitochondrial dysfunction in the complex rehabilitation of COVID-19 patients // Neuroscience and Behavioral Physiology. – 2022. – Vol. 52, № 4. – P. 511-514.*

* * *

МАГНИЙ, КАЛЬЦИЙ, СТРОНЦИЙ И ВИТАМИН D В ПРОФИЛАКТИКЕ ОСТЕОПОРОЗА И САРКОПЕНИИ У ПОЖИЛЫХ ЛЮДЕЙ

Марченко С.Р.

Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы, Москва

Ключевые слова: *остеопороз; саркопения; кальций; магний; стронций.*

Введение. В пожилом возрасте ввиду изменения обменных процессов, снижения активности и недостаточного внимания к нутриентной ценности пищи нередко развиваются такие заболевания как саркопения и остеопороз, которые могут характеризоваться слабостью и переломами, одним из наиболее опасных является перелом шейки бедра. Оценка биоэлементного статуса и его своевременная корректировка может предотвратить развитие заболевания и улучшить качество жизни пациента. В статье рассматривается комплексное влияние магния, кальция, стронция и витамина D на профилактику и лечение заболеваний опорно-двигательного аппарата.

Цель. Определить влияние биоэлементов и витамина D на развитие и лечение остеопороза и саркопении у пожилых людей.

Материал и методы исследования. Проведен анализ научной литературы за 2013-2025 года, основой послужили исследования по биохимии костной и мышечной тканей, особое внимание уделялось эффективности применения добавок на основе магния, кальция, стронция и витамина D в профилактике остеопороза и саркопении у людей в возрасте старше 60 лет.

Результаты и обсуждение. Магний и кальций являются необходимыми биоэлементами для минерализации костной ткани и адекватного протекания обменных процессов. В исследовании Caffarelli C. с соавт. у более чем 1100 взрослых в возрасте 55 лет и старше низкое потребление кальция было связано с распространенными переломами. Нехватка витамина D часто встречается у пожилых людей с множественными заболеваниями опорно-двигательного аппарата [1]. В исследовании Bruyère O. с соавт. было показано, что у мужчин старше 70 лет при уровне 25(OH)D <40 нмоль/л риск развития саркопении в течение 5 лет был значительно выше (OR=2,53; 95% ДИ: 1,14–5,64) по сравнению с мужчинами, у которых уровень превышал 68,9 нмоль/л. Остеопороз выступал независимым предиктором саркопении (OR=2,99; 95% ДИ: 1,46–6,12; p=0,003) в когорте из 1099 взрослых старше 60 лет, наблюдавшихся на протяжении 4 лет. Однако клинические исследования доказали неэффективность лечения саркопении исключительно витамином D, только использование витаминно-минерального комплекса способно улучшить результаты [2]. Прием кальция и витамина D повышает минеральную плотность кости (СРС = 0,20, 95% ДИ: 0,05–0,35, p = 0,008). Терапия снизила количество переломов шейки бедра на 21% (ОР=0,79, 95% ДИ: 0,64–0,98) и общее количество переломов на 12% (ОР=0,88, 95% ДИ: 0,80–0,97) по сравнению с контрольной группой у пациентов. Прием магния с витамином повышал уровни витамина D в сыворотке крови на 12,45 нг/мл (95% ДИ: 8,66–16,24, p<0,001) по сравнению с приемом только витамина D, при оптимальной концентрации биоэлемента (17-26 нг/л) общий уровень витамина

D возрастал на 20–30 % в группах с дефицитом. У лиц в возрасте старше 65 лет с саркопенией 13-недельная добавка витамина D, кальция и лейцина снизила уровень ПТГ, уменьшила маркер резорбции кости CTX и привела к значимому увеличению общей минеральной плотности костей по сравнению с контрольной группой. Являясь антагонистом кальция, стронций способен имитировать его и встраиваться в структуру кости. При оптимальном соотношении этих биоэлементов, стронций увеличивает плотность костей и ингибирует резорбцию, что снижает риск переломов при остеопорозе при достаточной концентрации витамина D в плазме крови. При дефиците витамина D или кальция клинические проявления остеопороза усиливаются [3, 4]. Применение препаратов на основе стронция (стронций ранелат) показали выраженный терапевтический эффект: стимулировали работу остеобластов и ингибировали образование остеокластов, способствуя их апоптозу посредством сигнального пути кальций-чувствительных рецепторов и путей MAPK/Wnt—NFATc. Положительный эффект стронция также доказан и в имплантации: при использовании биоматериалов, легированных стронцием, у крыс с остеопорозом улучшалась структура трабекулярной кости и повышалась степень минерализации ткани.

Выводы. Магний и кальций играют ключевую роль в минерализации костной ткани, их дефицит нередко ассоциирован с переломами у людей старшего возраста. Дефицит витамина D ассоциирован с развитием саркопении и ухудшением состояния костно-мышечной системы, наиболее эффективным является сочетание витамина D с кальцием и магнием, что способствует минерализации кости, снижению риска переломов и улучшению показателей костного обмена. При достаточном содержании кальция и витамина D стронций также эффективен в профилактике и лечении остеопороза, поскольку способен подавлять резорбцию.

Заболевания опорно-двигательного аппарата, такие как остеопороз и саркопения, являются распространённой проблемой у пожилого населения и часто сопровождаются снижением минеральной плотности костной ткани, мышечной слабостью и повышенным риском переломов. Важное значение в профилактике и лечении данных заболеваний имеет оптимальное содержание в организме таких биоэлементов как магний, кальций, стронций и витамин D. Цель. Определить влияние магния, кальция, стронция и витамина D на развитие и лечение остеопороза и саркопении у пожилых людей. Материалы и методы. Проведен анализ научной литературы, посвященной биохимии костной и мышечной тканей, а также эффективности применения витаминно-минеральных комплексов на основе магния, кальция, стронция и витамина D в профилактике и лечении остеопороза и саркопении. Результаты. Установлено, что магний и кальций участвуют в минерализации костной ткани, низкое потребление кальция у людей старшего возраста ассоциировано с повышенной частотой переломов. Дефицит витамина D является часто встречающимся дисбалансом и нередко связан с повышенным риском развития саркопении. Показано, что применение витамина D в сочетании с кальцием повышает минеральную плотность костной ткани и снижает риск переломов. Совместный приём магния с витамином D способствует увеличению его уровня в сыворотке крови и улучшению показателей костного обмена. Комплексное применение витамина D, кальция и аминокислот также может снижать маркеры резорбции костной ткани и повышать её минеральную плотность. Стронций при оптимальном содержании кальция и витамина D способен встраиваться в структуру костной ткани, стимулировать активность

остеобластов и подавлять образование остеокластов. Заключение. Магний и кальций играют ключевую роль в минерализации костной ткани, а их дефицит часто ассоциирован с повышенным риском переломов у лиц пожилого возраста. Недостаток витамина D способствует развитию саркопении. Наиболее эффективным является комплексное применение витамина D с кальцием и магнием, что способствует повышению минеральной плотности кости и снижению риска переломов. При достаточном уровне кальция и витамина D стронций также может рассматриваться как эффективное средство профилактики и лечения остеопороза, подавляя активность остеокластов.

Список литературы:

1. *Токарева, Л. Г. Состояние костной и мышечной ткани у пациентов пожилого и старческого возраста / Л. Г. Токарева, А. В. Наумов, Н. О. Ховасова // Российский журнал гериатрической медицины. – 2025. – № 2(22). – С. 241-242. – DOI 10.37586/2686-8636-2-2025-241-242. – EDN EAOGVW.*
2. *Остеосаркопения / И. Л. Кляритская, И. А. Иськова, Т. А. Цапяк [и др.] // Крымский терапевтический журнал. – 2023. – № 1. – С. 29-34. – EDN PUVLTY.*
3. *Каминарская, Ю. А. Роль кальция и витамина D в лечении и профилактике остеопороза: необходимо ли их широкое применение? / Ю. А. Каминарская // Клиническое питание и метаболизм. – 2022. – Т. 3, № 3. – С. 167-176. – DOI 10.17816/clinutr112300. – EDN YNOZYP.*
4. *Новиков, П. И. Кальций и витамин D в профилактике и лечении остеопороза / П. И. Новиков, С. В. Моисеев // Клиническая фармакология и терапия. – 2019. – Т. 28, № 2. – С. 70-76. – EDN AFRAFN.*

* * *

НАРУШЕНИЕ БАРЬЕРНЫХ СВОЙСТВ ЭПИТЕЛИЯ ПОД ВЛИЯНИЕМ СТРЕПТОКОККОВОЙ АРГИНИНДЕИМИНАЗЫ

Маммедова Д.Т.[1,2], Зырянова А.А.[2], Заличева А.Б.[1], Егидарова Е.Ю.[1], Старикова Э.А.[1]

[1]Институт экспериментальной медицины,
[2]Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет),
Санкт-Петербург

Аннотация. *Цель исследования – изучение действия аргининдеиминазы (АДИ) S. pyogenes на барьерные свойства монослоя эпителиальных клеток человека линии HEp-2. Действие АДИ оценивали путем сравнения эффектов супернатантов разрушенных ультразвуком Streptococcus pyogenes (СРС) исходного штамма M49-16 и его изогенного мутанта с инактивированным геном ArcA M49-16delArcA. Концентрацию аргинина в надосадках клеточных культур оценивали методом Сакагучи. Анализ жизнеспособности клеток производили методом проточной цитометрии с использованием ДНК-связывающих красителей YO-PRO-1 и пропидия йодида. Целостность монослоя оценивали с помощью световой микроскопии и красителя кристаллического фиолетового. Для анализа структуры цитоскелета клетки окрашивали фаллоидином, меченным AlexaFluor 488. В присутствии СРС исходного штамма M49-16, экспрессирующего АДИ, регистрировали аргинин-зависимое нарушение целостности монослоя и структуры актинового цитоскелета эпителия.*

Ключевые слова: *Эпителиоциты гортани, Streptococcus pyogenes, аргининдеиминаза, L-аргинин, актиновый цитоскелет.*

Введение. Стрептококки группы А (*Streptococcus pyogenes*) сохраняют статус самого распространенного бактериального патогена человека и являются серьезной проблемой здравоохранения. Инфекции, вызванные этими бактериями, имеют разнообразные клинические проявления, вызывая местные, системные и генерализированные заболевания [1]. Нередки случаи развития вторичной стрептококковой инфекции на фоне первичного заражения вирусом гриппа. Коинфекция, в свою очередь, повышает риски возникновения тяжелых форм пневмонии, инвазивных стрептококковых осложнений и резкое увеличение показателей летальности [2]. Истощение L-аргинина в микроокружении клеток организма-хозяина является распространенной стратегией метаболической эвазии патогенов, направленной на подавление антимикробного ответа [3]. Биодоступность L-аргинина играет важную роль в поддержании барьерной функции эпителия. Эта аминокислота участвует в посттрансляционном аргинилировании белков цитоскелета [4], структура которого поддерживает целостность клеточного монослоя [5]. В исследовании, проведенном на фибробластах мышей, было показано, что аргинилирование регулирует количество внутриклеточного актина и структуру актиновых филаментов этих клеток, что в свою очередь влияет на адгезию, миграцию клеток и морфогенез ткани [6].

Помимо этого, L-аргинин является субстратом для продукции полиаминов и оксида азота. Эти метаболиты регулируют пролиферацию и миграцию эпителиальных клеток, что критически важно для поддержания барьерной функции [7, 8]. Аргининдеиминаза (АДИ) – бактериальный фермент, необратимо гидролизующий L-аргинин с образованием L-цитруллина и аммиака. АДИ обеспечивает патогены энергией и защищает их от кислой среды микроокружения и способствует выживанию бактерий в эпителиоцитах [9]. Однако влияние АДИ на функции эпителиальных клеток до сих пор слабо изучено.

Цель. Изучение влияния АДИ *S. pyogenes* на барьерные свойства монослоя эпителиальных клеток линии HEp-2.

Материалы и методы. **Культура клеток.** В работе использовали перевиваемую клеточную линию HEp-2, которая была получена из коллекции клеточных культур компании ООО «Биолот» (Россия). Клетки культивировали в среде DMEM (БиолоТ, Россия) с содержанием 10% эмбриональной телячьей сыворотки (Gibco Thermo Fisher Scientific, США), 2мМ глутамина (ПанЭко, Россия) и 50 мкг/мл гентамицина (БиолоТ, Россия). Пересев клеток производили дважды в неделю, кратность составляла 1:3. Дезинтеграцию эпителиального монослоя проводили при 37°С с использованием растворов Версена (ПанЭко, Россия) и Трипсина-ЭДТА (Sigma-Aldrich, США).

Супернатанты разрушенных ультразвуком *Streptococcus pyogenes.* Действие АДИ *S. pyogenes* на эпителиальные клетки оценивали путем сравнительного анализа эффектов супернатантов разрушенных ультразвуком *Streptococcus pyogenes* (СРС) исходного штамма M49-16 и его изогенного мутанта с инактивированным геном *ArcA* M49-16del*ArcA*. Штаммы стрептококков любезно предоставил зав. отделом молекулярной микробиологии имени академика А.А. Тотоляна, ФГБНУ «ИЭМ», д.м.н. проф. Суворов А.Н. Получение мутантного штамма *S. pyogenes* и приготовление СРС осуществлялось согласно методике, описанной ранее в [10].

Определение концентрации L-аргинина в надосадках клеток линии HEp-2. Клетки засевали в 96-и луночные планшеты (Jet Biofil, Китай) в концентрации 25×10^3 клеток в 100 мкл и инкубировали до образования конфлюэнтного монослоя при температуре 37°С во влажной атмосфере с 5% CO_2. Через 72 ч культивирования в присутствии СРС надосадки клеточных культур собирали в микропробирки (Sarstedt, Германия) и хранили при -20°С. Анализ концентрации L-аргинина производили модифицированным колориметрическим методом Сакагучи, как описано в [11].

Оценка целостности эпителиального монослоя клеток линии HEp-2. Клетки засевали в 96-луночные планшеты в концентрациях 20×10^3 клеток в 100 мкл полной культуральной среды. После адгезии клеток вносили СРС и инкубировали еще 72 ч. Для фиксации клеток в лунки планшета на 10 мин вносили 50 мкл 0,2% раствора кристаллического фиолетового (Sigma-Aldrich, США) на 10% метаноле (Вектон, Россия), после чего производили трехкратную отмывку дистиллированной водой и высушивали. Оценку целостности монослоя проводили методом световой микроскопии с помощью микроскопа AxioObserver. D1 (Zeiss, Германия).

Исследование жизнеспособности клеток линии HEp-2. Клетки в концентрации 15×10^3 клеток в 100 мкл полной культуральной среды засевали в 96-и луночные планшеты (Jet Biofil, Китай) и инкубировали при температуре 37°С, во влажной атмосфере с содержанием 5% CO_2. Затем вносили исследуемые вещества и культивировали ещё 24 ч, после чего монослой разрушали с помощью раствора аккутазы (Sigma-Aldrich, США).

Далее производили окрашивание клеток раствором YO-PRO-1® (Invitrogen, США) в конечной концентрации 100 нМ и раствором йодида пропидия (Invitrogen, США) в конечной концентрации 2 мкг/мл в течение 5 мин. Образцы анализировали на проточном цитометре Navios (Beckman Coulter, США).

Анализ структуры актинового цитоскелета. Эпителиальные клетки в концентрации 10×10^3 клеток в 500 мкл полной культуральной среды вносили в 24-х луночные плоскодонные планшеты (Sarstedt, Германия), на дно которых были предварительно помещены стерильные обезжиренные покровные стекла. После адгезии клеток в лунки планшета вносили исследуемые вещества и инкубировали 72 ч при температуре 37°С во влажной атмосфере с 5% CO_2. По окончании инкубации среду удаляли, клетки фиксировали в 50 мкл 4% формальдегида 10 мин при 25°С. Фиксатор удаляли трехкратной отмывкой фосфатно-солевым буфером (ФСБ). Пермеабилизацию клеток производили 0,01% раствором Тритона Х-100 (Sigma-Aldrich, США) 5 мин при 25°С. После этого, детергент удаляли и стекла промывали ФСБ (БиолоТ, Россия). Далее, вносили 50 мкл раствора фаллоидина, меченного AlexaFluor 488 на 3,3% метаноле (Invitrogen, США), в концентрации 6,7 ЕД/мл, (0,22 μМ), инкубировали 10 мин при температуре 37°С. Ядра окрашивали 50 нМ раствором DAPI (Invitrogen, США) 5 мин. Стекла промывали ФСБ, высушивали и наносили среду для заключения (Invitrogen, США). Препараты анализировали с помощью микроскопа AxioObserver. D1 (Zeiss, Германия), обработка изображений проводилась с использованием программного обеспечения AxioVisionRel. 4.7 (Zeiss, Германия).

Статистическая обработка данных. Нормальность распределения полученных данных проверяли тестами Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. Анализ данных проводили с помощью теста Краскела-Уоллиса, с последующим апостериорным тестом Данна. Результаты представляли как медиану и интерквартильный размах (Med [Q25;Q75]). Нулевая гипотеза отвергалась при $p<0,05$.

Результаты и обсуждение. АДИ является ферментом, осуществляющим необратимый гидролиз L-аргинина. Предварительно оценивали уровень аминокислоты в культуральной среде клеток после инкубации в присутствии СРС. Концентрация L-аргинина в среде в присутствии СРС исходного штамма М49-16 статистически значимо снижалась в 1,5 раза по сравнению с контролем (таблица 1). В пробах содержащих СРС мутантного штамма уровень L-аргинина не отличался от контроля и был достоверно выше, чем в пробах с содержащих СРС исходного штамма.

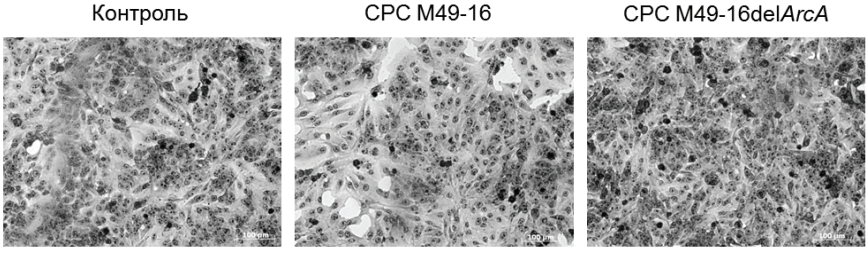
Таблица 1.

Влияние супернатантов разрушенных *S. pyogenes* на уровень L-аргинина в надосадках клеток линии HEp-2

Концентрация L-аргинина в надосадках клеток линии HEp-2 (мкМ, Med [Q25; Q75], N=10) при 72-х часовом культивировании в присутствии		
Культуральной среды (Контроль)	М49-16 (разбавление 1/100)	М49-16del*ArcA* (разбавление 1/100)
234,8 [211,6; 272,6]	149,9 [110,2; 209,8] *	264,3 [140,6; 291,0] •

*Примечание – Отличия от контроля достоверны при * - $p<0,05$; Отличия от СРС М49-16 достоверны при • - $p<0,05$*

Предполагается, что дефицит L-аргинина под действием АДИ может приводить к нарушению барьерной функции эпителия. Поэтому далее проводили исследование действия СРС исходного и мутантного штаммов на целостность эпителиального монослоя. При культивировании клеток в присутствии исходного штамма детектировались разрывы в монослое, участки без клеток (рисунок 1). В присутствии СРС мутантного штамма структура монослоя эпителия практически не отличалась от контроля.



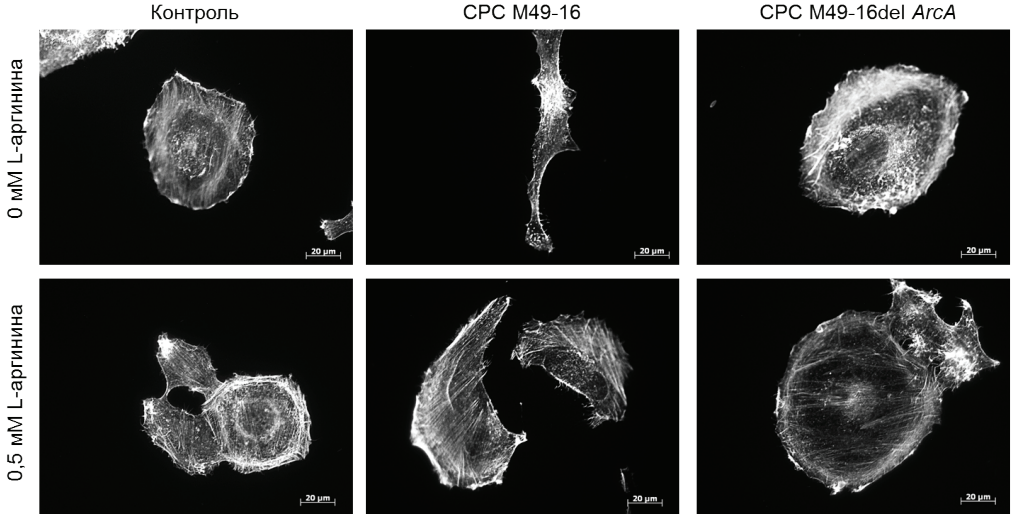
Микроскопия после окраски красителем кристаллическим фиолетовым.
Длительность инкубации 72 часа. Разведение СРС 1/100. Ув. ×100. СРС, супернатанты разрушенных *S. pyogenes*

Рис.1.
Сравнительная микроскопическая картина, отражающая целостность монослоя клеток линии HEp-2

Чтобы оценить, не связаны ли наблюдаемые эффекты с гибелью клеток, изучали действие СРС на жизнеспособность эпителиальных клеток. Было установлено, что в присутствии СРС и исходного (88,6 [81,5; 91,8]%) и мутантного штаммов (81,5 [78,7; 84,6]%) в разведении 1/100 не происходило достоверного снижения доли живых клеток по сравнению с контролем (89,5 [85,2; 93,5]%) (во всех экспериментах n=6).

Дефицит L-аргинина непосредственно влияет на посттрансляционное аргинилирование актина [6], что может приводить к нарушению барьерной функции эпителия [7]. Задачей дальнейших экспериментов стало изучения действия СРС на структуру актинового цитоскелета клеток эпителия. В стандартных условиях культивирования клетки имели типичную полигональную форму (рисунок 2). Актиновые филаменты формировали чёткую сеть, они тянулись вдоль оси клетки и концентрировались по периметру, формируя кортикальное кольцо. Супернатант мутантного штамма не вызывал существенного изменения организации актинового цитоскелета как в отсутствии, так и в присутствии добавки L-аргинина.

Инкубация клеток в присутствии исходного штамма приводила к выраженным изменениям структуры актинового цитоскелета (рисунок 2). Нарушалась организация актиновых филаментов, актин перераспределялся по краю клеток. Клетки теряли типичную морфологию, становились более вытянутыми. Добавка 0,5 мМ L-аргинина одновременно с СРС исходного штамма приводила к видимому восстановлению структуры актинового цитоскелета, что выражалось в упорядочении актиновых филаментов и приобретении клетками характерной полигональной формы.



Актиновый цитоскелет окрашивали фаллоидином, меченным AlexaFluor488. СРС в разбавлении 1/100, Ув. ×400. СРС, супернатанты разрушенных *S. pyogenes*

Рис.2.
Сравнительная микроскопическая картина, отражающая структуру актинового цитоскелета клеток линии HEp-2

Полученные в этом исследовании результаты подтверждают данные проведенных ранее исследований, в которых было установлено, что АДИ в составе СРС исходного штамма M49-16 приводит к изменению структуры актинового цитоскелета, нарушению целостности монослоя и морфологии первичных и трансформированных эндотелиальных клеток [11, 12]. Было показано, что нарушение посттрансляционного аргинилирования вызывает агрегацию актиновых филаментов, что приводит к разрушению подвижного края фибробластов [13]. Помимо дефектов аргинилирования актина, другим вероятным механизмом действия АДИ может быть опосредованная недостатком аргинина блокировка работы актин-регулирующего белка кофилина 1 [14]. В исследовании на Т-лимфоцитах было показано, что в условиях дефицита аргинина ингибирование дефосфорилирования кофилина коррелирует с нарушением полимеризации актина [15].

Выводы. В данном исследовании впервые было установлено, что дефицит L-аргинина вследствие активности АДИ в составе СРС исходного штамма приводит к нарушению целостности монослоя и структуры актинового цитоскелета эпителиальных клеток линии HEp-2.

Источник финансирования. Исследование выполнено в рамках государственного задания ФГБНУ «ИЭМ» (FGWG -2025-0004, рег. № 1022041101001-1).

Список литературы:

1. *Брико, Н. И., Глушкова Е. В., Какорина Е. П. Стрептококковая (группы А) инфекция в России: состояние проблемы и тенденции развития/ Н. И. Брико, Е.В. Глушкова, Е.П. Какорина // Журнал инфектологии. – 2019. – Т. 11. – № 1. – С. 7–16.*
2. *Borgogna, R. T., Voyich M. J. Examining the Executioners, Influenza Associated Secondary Bacterial Pneumonia/R.T. Borgogna, M.J. Voyich // Infectious Diseases. London : IntechOpen, – 2022.*
3. *Gogoi, M. Dual role of arginine metabolism in establishing pathogenesis / M. Gogoi, A. Datey, K. T. Wilson, D. Chakravortty // Current Opinion in Microbiology. – 2016. – Vol. 29. – P. 43–48.*
4. *Varland, S. Actin Post-translational Modifications: The Cinderella of Cytoskeletal Control / S. Varland, J. Vandekerckhove, A. Drazic // Trends in Biochemical Sciences. – 2019. – Vol. 44. – № 6. – P. 502–516.*
5. *Rodgers, L. S., Fanning A. S. Regulation of epithelial permeability by the actin cytoskeleton / L. S. Rodgers, A. S. Fanning // Cytoskeleton. – 2011. – Vol. 68. – № 12. – P. 653–660.*
6. *Karakozova, M. Arginylation of beta-actin regulates actin cytoskeleton and cell motility / M. Karakozova, M. Kozak, C.C.L. Wong et al. // Science. - 2006. - Vol. 313, № 5784. - P. 192-196.*
7. *Rao, J. N., Xiao L., Wang J. Y. Polyamines in Gut Epithelial Renewal and Barrier Function / I. N. Rao, L. Xiao, J. Y. Wang // Physiology. – 2020. – Vol. 35. – № 5. – P. 328–337.*
8. *Bayarri M. A., Milara J., Estornut C., Cortijo J. Nitric Oxide System and Bronchial Epithelium: More Than a Barrier / M. A. Bayarri, J. Milara, C. Estornut, J. Cortijo // Frontiers in Physiology. – 2021. – Vol. 12. – P. 687381.*
9. *Degnan, B.A. Characterization of an isogenic mutant of Streptococcus pyogenes Manfredo lacking the ability to make streptococcal acid glycoprotein / B.A. Degnan, M.C. Fontaine, A.H. Doebereiner et al. // Infection and Immunity. - 2000. - № 5 (68). - P. 2441-2448.*
10. *Starikova E.A. Role of arginine deiminase in thymic atrophy during experimental Streptococcus pyogenes infection / E.A. Starikova, A.S. Golovin, K.A. Vasilyev et al. // Scandinavian Journal of Immunology. - 2019. - Vol. 89, № 2. - P. e12734*
11. *Маммедова Д.Т. Аргининдеиминаза пиогенного стрептококка М49-16 нарушает структуру актинового цитоскелета и конфлюэнтность монослоя в культуре эндотелиальных клеток / Д.Т. Маммедова, А.Б. Карасева, Л.А. Бурова и др. // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. - 2023. - Т. 109, № 3. - С. 300-314.*
12. *Старикова Э.А. Влияние аргининдеиминазы Streptococcus pyogenes на миграционную активность и структуру цитоскелета эндотелиальных клеток человека / Э.А. Старикова, Д.Т. Маммедова, Л.А. Бурова и др. // Медицинская иммунология. - 2017. - Т. 19, № 5. - С. 521-528.*
13. *Saha, S. Arginylation regulates intracellular actin polymer level by modulating actin properties and binding of capping and severing proteins / S. Saha, M. M. Mundia, F. Zhang [et al.] // Molecular Biology of the Cell. – 2010. – Vol. 21. – № 8. – P. 1350-1361.*

14. *Prasain, N. The actin cytoskeleton in endothelial cell phenotypes / N. Prasain, T. Stevens // Microvascular research. – 2009. – Vol. 77. – № 1. – P. 53-63.*
15. *Feldmeyer, N. Arginine deficiency leads to impaired cofilin dephosphorylation in activated human T lymphocytes / N. Feldmeyer, G. Wabnitz, S. Leicht [et al.] // International immunology. – 2012. – Vol. 24. – № 5. – P. 303-313.*

* * *

СПОСОБЫ КОРРЕКЦИИ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ У КРЫС, ПЕРЕЖИВШИХ ВИТАЛЬНЫЙ СТРЕСС

Матвеевская П.А., Апраксина Н.К., Белокоскова С.Г., Цикунов С.Г.
Институт экспериментальной медицины,
Санкт-Петербург

Аннотация. *Витальный стресс является пусковым механизмом ПТСР, приводя к срыву нейроэндокринной и нейроиммунной регуляции. В основе ПТСР стойкие психоэмоциональные нарушения, которые часто резистентны к стандартной психофармакотерапии. Понимание конкретных звеньев в патогенезе ПТСР позволяет обосновать применение таких нейромодуляторов как лактоферрин и вазопрессин, которые играют ключевую роль в дисрегуляции нейропептидных систем и хроническом нейровоспалении. Цель данной работы заключалась в оценке эффективности применения рекомбинантного апо-лактоферрина и 1-дезамино-8-D-аргинин-вазопрессина в модели витального стресса для коррекции психоэмоциональных нарушений у крыс. Показано, что монотерапия лактоферрином эффективно купирует тревожность, но не влияет на консолидированную травматическую память, а применение вазопрессина снижает проявление реакций страха и оказывает выраженное анксиолитическое действие. Полученные данные могут быть использованы при разработке комбинированных способов коррекции психоэмоциональных расстройств, вызванных тяжёлой психической травмой.*

Ключевые слова: *витальный стресс, психоэмоциональное состояние, самцы крыс, способы коррекции.*

Введение. Витальный стресс - это экстремальное воздействие жизнеугрожающего характера, сопровождающееся каскадом нейроэндокринных изменений. Одним из последствий такого стресса является развитие ПТСР. Посттравматическое стрессовое расстройство характеризуется стойкими психоэмоциональными нарушениями, которые часто резистентны к стандартной психофармакотерапии [1]. В патогенезе ПТСР ключевую роль играют дисрегуляция нейропептидных систем и хроническое нейровоспаление. Потенциальными кандидатами для коррекции ПТСР рассматриваются вазопрессин и лактоферрин. Лактоферрин — гликопротеин с выраженными иммуномодулирующими и нейропротективными свойствами, способный влиять на метаболизм железа и цитокиновый профиль [2]. Вазопрессин участвует в регуляции стресс-ответа, социального поведения и консолидации травматической памяти [3]. Предполагается, что воздействие на мишени ПТСР нейромодуляторов может быть эффективным способом коррекции последствий витального стресса.

Цель. Оценить эффективность различных способов коррекции психоэмоциональных расстройств у крыс при ПТСР с помощью рекомбинантного апо-лактоферрина и 1-дезамино-8-D-аргинин-вазопрессина на экспериментальной модели.

Материалы и методы. Исследование проведено на 100 половозрелых крысах-самцах Wistar (300 ± 25 г). Витальный стресс моделировали обстоятельствами переживания ситуации гибели сородича от действий тигрового питона в течение 60 минут [4]. Выполнены две серии экспериментов по изучению влияния апо-лактоферрина и вазо-

прессина. Животные разделены на 6 групп 1) контроль (интактные животные); 2) контроль + 0,9 % NaCl; 3) ПТСР (VS); 4) ПТСР + 0,9 % NaCl (VSP) 5) ПТСР + лактоферрин (40 мкл/сут интраназально, 10 дней) (VSL); 6) ПТСР + вазопрессин (2 мкг/сут интраназально, 14 дней) (VSV). Психоэмоциональное состояние оценивали в тестах «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ), «Открытое поле» (ОП) после курса препаратов. Статистическая обработка: критерии Краскела–Уоллиса, Данна.

Результаты и обсуждение. Воздействие витального стресса приводило к угнетению двигательной активности и эмоциональной напряженности, что связывают с дисрегуляцией ГГНС [5]. Монотерапия рекомбинантным апо-лактоферрином эффективно купировала тревожность, но не влияла на консолидированную травматическую память. При курсовом применении апо-лактоферрина у стрессированных животных на фоне сохраненной оборонительной реакции и сниженной исследовательской активности в «ОП» регистрировался нормальный уровень тревожности в «ПКЛ». Данный эффект по всей видимости обусловлен способностью лактоферрина снижать нейровоспаление, характерное для витального стресса, тем самым оказывая нейропротекторное действие на структуру гиппокампа [6]. При оценке влияния вазопрессина в тесте «ОП» у «VSV» наблюдалось понижение суммарной длительности актов «груминг» ($p=0.0003$), повышение «обнюхивания» ($p=0.018$), а также понижение пройденного пути за первую минуту теста в сравнении с контролем ($p=0.048$). В тесте «ПКЛ» вазопрессин приводил к снижению длительности пребывания в закрытом рукаве ($p=0.0002$) и повышению пребывания в центре по сравнению с контролем ($p=0.001$), что свидетельствует о снижении тревожности крыс. При ПТСР чувствительность V1b-рецепторов меняется, а для агонистов вазопрессина показан положительный эффект на активность ГГНС, социальное поведение, что может лежать в основе положительного действия вазопрессина на психоэмоциональное состояние стрессированных крыс [7].

Заключение. Таким образом, монотерапия апо-лактоферрином эффективно купирует тревожность, но не влияет на консолидированную травматическую память, а применение 1-дезамино-8-D-аргинин-вазопрессина снижает проявление реакций страха и оказывает выраженное анксиолитическое действие. Полученные данные могут быть использованы при разработке комбинированных способов коррекции психоэмоциональных расстройств, вызванных тяжёлой психической травмой, направленных как на нейровоспалительный, так и пептидергический компоненты ПТСР.

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках ГЗ на фундаментальные научные исследования (FGWG-2025-0019).

Список литературы:

1. *Васильева А. В. Посттравматическое стрессовое расстройство – от травматического невроза к МКБ-11: особенности диагностики и подбора терапии // Медицинский совет. 2023. Т. 17. № 3. С. 94–108.*
2. *Свойства и перспектива применения белка молочной сыворотки лактоферрина в медицине и ветеринарии (обзор) / Е. Т. Жилякова [и др.] // Вопросы современной педиатрии. 2014. Т. 13. № 4. С. 12–19.*
3. *Белокоскова С. Г., Цикунов С. Г. Вазопрессин в механизмах реализации реакций на стресс и модуляции эмоций // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2018. Т. 16. № 3. С. 5–12.*

4. *Apraksina N. K., Avaliany T. V., Tsicunov S. G. Changes in Electrocortiographic Indicators in Rats in Situations of Real Threats to Life in a Vital Stress Model // Neurosci. Behav. Physiol. 2022. Vol. 52. №. 5. P. 739–746.*
5. *Cortisol Imbalance and Fear Learning in PTSD: Therapeutic Approaches to Control Abnormal Fear Responses / S. Battaglia [u др.] // Current Neuropharmacology. 2025. V. 23. № 7. P. 835-846.*
6. *Lactoferrin deficiency during lactation increases the risk of depressive like behavior in adult mice / W. Wang [et al.] // BMC Biology. 2023. Vol. 21. № 1. Art. 242*
7. *Белокоскова С. Г., Цикунов С. Г. Нейротрофические, нейропротективные, митогенные, антиоксидантные, антиапоптотические свойства вазопрессина // Успехи физиологических наук. 2022. Т.53. № 4. С. 50–61.*

* * *

УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ДИАГНОСТИКА ПРИЧИН ОСТРОЙ АБДОМИНАЛЬНОЙ БОЛИ У ДЕТЕЙ РАННЕГО И ДОШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА

Махмутов Р.Ф., Новиков Г.А.
ДонГМУ Минздрава России,
Донецк

Аннотация. *Цель исследования. Оценить структуру и возрастные особенности ультразвуковых изменений органов брюшной полости у детей* ***раннего и дошкольного*** *возраста с синдромом острой абдоминальной боли (ОАБ).*

Проведено когортное исследование 22 детей (возраст от 2 месяцев до 6 лет) с жалобами на боль в животе, с проводением УЗИ органов брюшной полости (конвексный датчик 3,5–5 МГц). Оценивались: эхогенность и структура печени и поджелудочной железы, форма и размеры желчного пузыря, наличие свободной жидкости, состояние стенки кишечника, визуализация червеобразного отростка, размеры и структура мезентериальных лимфатических узлов.

При УЗИ у пациентов 0–3 лет доминируют реактивные изменения паренхимы печени и/или поджелудочной железы (44,4%), у детей 4–6 лет преобладают деформации желчного пузыря (38,5%), свободная жидкость (38,5%). Мезаденит (22,7%) выявлен во всех возрастных группах. Свободная жидкость в брюшной полости представляет собой неспецифический, клинически значимый признак, требующий обязательного исключения острого аппендицита, особенно при отсутствии визуализации отростка и наличии локальной болезненности.

Полученные данные подтверждают высокую информативность УЗИ как первичного скринингового метода при ОАБ у детей.

Ключевые слова: *острая абдоминальная боль, ультразвуковое исследование, диагностика, дети.*

Введение. Острая абдоминальная боль (ОАБ) остаётся одной из наиболее частых причин обращений к врачу в педиатрической практике [1, 2]. Сложность дифференциальной диагностики обусловлена широким спектром возможных состояний – от функциональных расстройств и вирусных инфекций до хирургической патологии, требующей немедленного вмешательства. У детей раннего возраста клиническая картина часто неспецифична, что повышает роль инструментальных методов. Ультразвуковое исследование (УЗИ) является методом выбора благодаря безопасности, быстроте и высокой информативности, однако интерпретация его результатов требует учёта индивидуальных особенностей, а также высокой квалификации врача проводящего исследование. Активно изучаются ультразвуковые маркеры мезаденита, воспалительных изменений кишечника и билиарной патологии, что расширит диагностические возможности [1-6]. Настоящее исследование обобщает опыт применения УЗИ у детей с ОАБ раннего и дошкольного возраста.

Цель исследования. Оценить структуру и возрастные особенности ультразвуковых изменений органов брюшной полости у детей раннего и дошкольного возраста с синдромом острой абдоминальной боли.

Материалы и методы. На базе КУ ДНР «Детская городская клиническая больница г. Макеевка» проведено ретроспективное когортное исследование. В анализ включено 22 ребёнка (13 мальчиков, 9 девочек) в возрасте от 2 месяцев до 6 лет. Пациенты были госпитализированы в отделение детской хирургии и травматологии с жалобами на боль в животе и в ходе обследования прошли УЗ-диагностику органов брюшной полости. Исследования выполнялись на аппаратах с конвексным датчиком 3,5–5 МГц. Оценивались: эхогенность и структура печени и поджелудочной железы, форма и размеры желчного пузыря, наличие свободной жидкости, состояние стенки кишечника, визуализация червеобразного отростка, размеры и структура мезентериальных лимфатических узлов. Данные систематизированы по возрастным группам: 0–3 года (n=9) и 4–6 лет (n=13), а также проведён сравнительный анализ по полу. Статистическая обработка выполнена с использованием методов описательной статистик, оценкой взаимосвязей между переменными. Статистическая значимость различий оценивалась при $p<0,05$.

Результаты и обсуждение. В общей выборке наиболее часто регистрировались следующие эхографические находки: свободная жидкость в брюшной полости или малом тазу (7 (31,8%) случаев), диффузные изменения паренхимы печени и/или поджелудочной железы (5 (22,7%) случаев), деформация желчного пузыря в виде перегиба или S-образной формы (5 (22,7%) случаев), увеличенные мезентериальные лимфатические узлы размером более 7 мм (5 (22,7%) случаев), воспалительные изменения стенки кишечника с утолщением более 2,5 мм и отёком (4 (18,2%) случая), метеоризм или копростаз (3 (13,6%) случая), а также локальной болезненности в правой подвздошной области при невизуализируемом отростке (2 (9,1%) случая).

При распределении основных признаков по возрастным группам выявлены выраженные различия. В группе детей 0–3 года диффузные изменения паренхимы печени и/или поджелудочной железы встречались в 4 (44,4%) случаях, тогда как в старшей группе – лишь у 1 (7,7%) пациента ($p<0,05$). Деформация желчного пузыря не была зафиксирована ни у одного ребёнка в возрасте до 3 лет, но выявлена у 5 (38,5%) детей 4–6 лет ($p<0,001$). Свободная жидкость обнаруживалась в обеих группах – у 2 (22,2%) детей в младшей и у 5 (38,5%) пациентов в старшей группах.

При оценке гендерных различий установлено, что мальчики составили 59,1% всей выборки. Деформация желчного пузыря зафиксирована у 4 (80,0%) мальчиков и только у 1 (20,0%) девочки ($p<0,05$); мезаденит также преобладал у мальчиков (4 (80,0%) мальчика и 1 (20,0%) девочка ($p<0,05$)). Пациенты, у которых была обнаружена свободная жидкость в малом тазу распределялась почти равномерно (4 (80,0%) мальчика и 3 (60,0%) девочки ($p<0,05$)), также как и пациенты с диффузными изменениями паренхимы печени и/или поджелудочной железы, но здесь частота встречаемости выше у девочек (3 (60,0%) девочки и 2 (40,0%) мальчика ($p<0,05$)).

Проведённое исследование позволило выявить чёткие возрастные закономерности в структуре ультразвуковых изменений при ОАБ у детей. Наиболее яркой тенденцией является преобладание диффузных реактивных изменений паренхиматозных органов в группе 0–3 года по сравнению со старшей группой (44,4% против 7,7% соответственно ($p<0,001$)). Данный факт согласуется с известными представлениями о физиологической незрелости ферментативных систем у детей раннего возраста, высокой частоте реактивных панкреатитов и гепатитов, возникающих на фоне острых респираторных вирусных инфекций или погрешностей в диете.

В противоположность этому, деформация желчного пузыря не встречалась у детей до 3 лет, но выявлялась у 5 (38,5%) пациентов 4–6 лет ($p<0,001$). Это может указывать на формирование билиарной дисфункции в дошкольном возрасте, что, вероятно, связано с процессами роста. Особого внимания заслуживает факт преобладания данной находки у мальчиков (соотношение 4:1), что требует дальнейшего изучения с привлечением более крупных выборок.

Свободная жидкость в брюшной полости регистрировалась в обеих возрастных группах, однако её клиническое значение различалось. В младшей группе выпот чаще сочетался с воспалительными изменениями кишечника, тогда как у детей 4–6 лет он нередко был единственным объективным признаком. В двух случаях в старшей группе (мальчики 5–6 лет) при наличии жидкости и локальной болезненности, червеобразный отросток не визуализировался и по совокупности клинико-инструментальных данных детям было выполнено оперативное вмешательство, подтвердившее флегмонозную форму аппендицита. Эти наблюдения подчёркивают необходимость тщательного исключения хирургической патологии при обнаружении свободной жидкости, особенно в отсутствие визуализации отростка.

Мезаденит (увеличение мезентериальных лимфатических узлов) был выявлен у 22,7% всех пациентов и встречался во всех возрастных группах. В старшей группе он часто являлся изолированной причиной острой абдоминальной боли. Ультразвуковые критерии – овоидная форма узлов, сохранная структура и размеры более 7 мм – позволяют с высокой уверенностью диагностировать это состояние.

Воспалительные изменения стенки кишечника (утолщение, усиление перистальтики, отёк слизистой) наблюдались преимущественно у детей старше 2 лет и в половине случаев сопровождались выпотом. Это подчёркивает важность комплексной оценки всех отделов кишечника при проведении УЗИ у пациентов с абдоминальным болевым синдромом.

Метеоризм и копростаз, напротив, чаще встречались у детей младшего возраста, что отражает возрастные особенности моторики и становления кишечного микробиоценоза. У младенцев выраженный пневматоз кишечника может имитировать более серьёзную органическую патологию, однако при отсутствии других эхографических изменений такой результат позволяет рекомендовать консервативную тактику.

Гендерный анализ показал, что деформация желчного пузыря и мезаденит достоверно чаще регистрируются у мальчиков. Причинами этого могут быть гормональные и анатомические факторы, однако для окончательных выводов необходимы исследования на больших группах пациентов.

Выводы. Ультразвуковая картина при ОАБ у детей имеет выраженную возрастную специфику. У пациентов 0–3 лет доминируют реактивные изменения паренхимы печени и/или поджелудочной железы (44,4%), тогда как у детей 4–6 лет преобладают деформации желчного пузыря (38,5%) и свободная жидкость (38,5%) ($p<0,001$). Мезаденит является важной и недооценённой причиной абдоминального болевого синдрома, встречаясь в 22,7% случаев во всех возрастных группах ($p<0,05$), и уверенно диагностируется при УЗИ. Свободная жидкость в брюшной полости представляет собой неспецифический, но клинически значимый признак, требующий обязательного исключения острого аппендицита, особенно при отсутствии визуализации отростка и наличии локальной болезненности. Деформация желчного пузыря и мезаденит чаще выявляются у мальчиков,

что открывает перспективы для гендерно-ориентированных диагностических подходов. Полученные данные подтверждают высокую информативность УЗИ как первичного скринингового метода при острой абдоминальной боли у детей. Вместе с тем ограниченный объём выборки, диктует необходимость дальнейших исследований с включением большего числа пациентов для уточнения возрастных норм и оптимизации диагностических алгоритмов.

Список литературы:

1. *Kottmeier P.K., Welch K., Randolph J., Ravitch M. Appendicitis // Pediatric surgery. Chicago: Year Book Medica, 1986. P. 989–995.*
2. *Park N.H., Oh H.E., Park H.J., Park J.Y. Ultrasonography of normal and abnormal appendix in children // World J. Radiol. 2011. Vol. 3, N 4. P. 85–91.*
3. *Махмутов Р.Ф., Новиков Г.А. Актуальные вопросы диагностики острого аппендицита у детей преддошкольного и дошкольного возраста // Практическая медицина. 2025. Т. 23, № 1. С. 33–36.*
4. *Махмутов Р.Ф., Новиков Г.А. Современный взгляд на диагностику острой абдоминальной боли у детей // Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей (Москва, 18-20 марта 2025 г.): материалы XXXII Конгресса детских гастроэнтерологов России и стран СНГ / под общей редакцией проф. С.В. Бельмера. М.: ИД «МЕДПРАКТИКА-М», 2025. С. 47–49.*
5. *Махмутов Р.Ф., Новиков Г.А. Особенности, влияющие на чувствительность ультразвукового исследования в диагностике абдоминальной боли у детей. Обзор литературы // University therapeutic journal (Университетский терапевтический вестник). 2025. Vol 7, № 3. P. 52–59.*
6. *Махмутов Р.Ф., Новиков Г.А. Сонографическое исследование аппендикса, в норме и при патологии, у детей первых 6 лет жизни // Практическая медицина. 2025. Т. 23, № 5. С. 24–30.*

* * *

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПОДАВЛЕНИЯ АКТИВАЦИИ Т-КЛЕТОК СТРЕПТОКОККОВОЙ АРГИНИНДЕИМИНАЗОЙ

Махновецкая В.Б.[1], Абдулкадырова Н.Ш.[1,2], Маммедова Д.Т.[1,2], Заличева А.Б.[2], Старикова Э.А.[2]

[1]Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет),
[2]Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Аннотация. *Бактериальный фермент – аргининдеиминаза (АДИ) – подавляет Т-клеточные реакции. Цель исследования – изучение механизмов действия АДИ в отношении Т-лимфоцитов периферической крови человека. В работе использовали супернатанты разрушенных стрептококков Streptococcus pyogenes M49-16 (СРС). Мононуклеарные лейкоциты выделяли из периферической крови здоровых доноров, для активации Т-клеток использовали конканавалин А (ConA). Анализ жизнеспособности клеток, экспрессии субъединицы Т-клеточного рецептора – CD3 и активационных маркеров CD69 и CD25 проводили методом проточной цитометрии. Содержание IL-2 оценивали в иммуноферментном анализе. Пролиферацию исследовали в МТТ-тесте. Активация клеток вызывала повышение пролиферации и экспрессии CD69 и CD25. СРС усиливал активацию (уровень CD69 и CD25), но подавлял пролиферацию лимфоцитов, вызванные ConA. Это сопровождалось снижением уровня экспрессии компонента Т-клеточного рецепторного комплекса – CD3. Добавка L-аргинина нивелировала эффекты СРС.*

Ключевые слова: *аргининдеиминаза, Streptococcus pyogenes, Т-лимфоциты, пролиферация, активация, экспрессия CD3.*

Введение. Тесная зависимость функциональной активности Т-клеток от биодоступности аргинина [1] позволяет предположить, что ферменты, гидролизующие аргинин, могут служить частью стратегии иммунного уклонения патогенов. Аргининдеиминаза (АДИ) – бактериальный фермент, который гидролизует аргинин, с образованием одной молекулы аммиака и двух молекул АТФ [2]. Стрептококки могут использовать АДИ для локального снижения концентрации аргинина в наиболее частом месте их персистенции – миндалинах, где происходит активация, клональная экспансия и дифференцировка Т-клеток [3, 4], что повышает риск рецидивирующих инфекций. Ранее было установлено, что АДИ значительно подавляет пролиферацию, аутофагию Т-клеток, дифференцировку клеток памяти и Th17-поляризацию [5-7]. Молекулярные механизмы действия фермента на Т-клетки остаются плохо изученными.

Цель. Изучение молекулярных механизмов подавления пролиферации Т-клеток в присутствии стрептококковой АДИ.

Материалы и методы. Штаммы *S. pyogenes.* Для изучения механизмов действия АДИ использовали супернатант разрушенных стрептококков *S. pyogenes* M49-16 полученный и охарактеризованный как описано ранее [8].

Выделение и культивирование мононуклеарных лейкоцитов периферической крови человека. Кровь здоровых доноров в возрасте от 20 до 50 лет собирали в пробирки, содержащие антикоагулянт K_3EDTA. Выделение мононуклеарных лейкоцитов осуществляли путем осаждения клеток на градиенте фиколла (Биолот, Россия) плотностью 1,077 г/мл на центрифуге (Eppendorf, Германия) с горизонтальным ротором в течение 40 мин при 400g и температуре 21°C. Жизнеспособность клеток, которую оценивали путем окрашивания клеточной суспензии 0.2% раствора трипанового синего, составляла не менее 98%. Клетки ресуспендировали в среде RPMI-1640 (ПанЭко, Россия), содержащей 10% инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки (HyClone, США), 2мМ глутамина (ПанЭко, Россия), 50 мкг/мл гентамицина (Биолот, Россия) и 50 мкМ β-меркаптоэтанола (Sigma-Alrich, США) и доводили концентрацию до 2 млн/мл.

Анализ пролиферативной активности в МТТ-тесте. 100 мкл полученной клеточной суспензии вносили в 96-луночный плоскодонный планшет (Sarstedt, США). Здесь и далее, клетки инкубировали в присутствии исследуемых факторов: 5 мкг/мл лектина конканавалина А (ConA) из *Canavalia ensiformis* (Serva, Германия), а также СРС *S. pyogenes* M49-16 в разведении 1/400 при 37°C во влажной атмосфере с 5% содержанием CO_2 в течение 24, 48 и 72 часа. Для подтверждения аргинизависимости эффектов АДИ, в лунки, содержащие СРС *S. pyogenes* M49-16 вносили L-аргинин в супрафизиологической концентрации 1 mM. На последние 4 ч инкубации в лунки вносили МТТ (3-(4.5-диметилтиазол-2-ил)-2.5-дифенил-тетразолиум бромид) (Sigma-Aldrich, США) в концентрации 0.5 мг/мл. Для лизиса клеток и растворения кристаллов формазана в лунки вносили 100 мкл лизирующего буфера, содержащего 10% додецилсульфат натрия (Serva, Германия) в 0,01N-HCl и инкубировали 18 ч при 37°C. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре (Bio-Rad, США) при длине волны 570 нм. Результаты выражали в процентах, оптическую плотность контрольных лунок принимали за 100%.

Анализ уровня экспрессии поверхностных маркеров. Клетки вносили в лунки 96-луночного планшета (Sarstedt, США). По окончании инкубации с исследуемыми веществами полученные клеточные суспензии окрашивали антителами против: CD25, меченными FITC (кат. № 356106); CD3, меченными APC (кат. № IM2467) (все – Beckman Coulter, США) и CD69, меченными PerCP-Cy5.5 (кат. № 310926) (Biolegend) в соответствии с рекомендациями производителей. Для исключения из анализа клеток в состоянии некроза проводили докрашивание образцов раствором ДНК-связывающего красителя DAPI (4′,6-диамидино-2-фенилиндол) (Invitrogen, США) в концентрации 300 нМ. Пробы анализировали на проточном цитометре Navios (Beckman Coulter, США). В анализ брали CD3+ клетки негативные по DAPI. Уровень экспрессии поверхностных маркеров выражали в относительных единицах интенсивности флуоресценции.

Анализ содержания IL-2 в надосадках клеточных культур. Содержание IL-2 оценивали в иммуноферментном анализе с помощью коммерческой тест-системы «Вектор-Бест» (Россия).

Жизнеспособность. Жизнеспособность клеток оценивали методом проточной цитометрии, путем окрашивания клеток флуоресцентными красителями YO-PRO-1® (Invitrogen, США) в рабочей концентрации 100 нМ и иодида пропидия (Invitrogen, США) в рабочей концентрации 2 мкг/мл, что позволяет выявлять клетки на разных стадиях апоптоза и клетки в состоянии некроза.

Статистическая обработка данных. Для статистической обработки данных использовали программы Microsoft Office Excel 2010 (Microsoft, США), Navios Software 1.0 (Beckman Coulter, США), Kalusa Flow analysis Software (Beckman Coulter, США), и GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, США). Для проверки нормальности распределения полученных выборок применяли критерий Шапиро-Уилка. Дальнейший анализ производили с помощью теста Краскела-Уоллиса, попарные сравнения осуществляли тестом Манна-Уитни. Данные представлены как медиана и интерквартильный размах (Med [Q25;Q75]). Во всех экспериментах различия считали значимыми при $p<0,05$.

Результаты и обсуждение. Активацию Т клеток регулируют сигналы Т-клеточного рецепторного комплекса [9], а также сигналы IL-2, который аутокринно обеспечивает пролиферацию и клональную экспансию Т-лимфоцитов [10]. CD69 является самым ранним маркером активации лимфоцитов. CD69 удерживает активированные Т-клетки в тканях, контролируя их дифференцировку и секрецию воспалительных цитокинов [11]. Наши исследования показали, что под влиянием митогена ConA на первые сутки в Т-клетках происходило повышение продукции IL-2 (от 1,9 [0,46; 4,8] пг/мл в контроле, до 23,69 [18,7; 26,7] пг/мл при стимуляции ConA, при $p<0,01$), а также регистрировалась повышенная экспрессия CD69 (0,8 [0,8; 0,9] MFI в контроле и 18,7 [15,3; 20,4] MFI при стимуляции ConA на 1 сутки, на 2 сутки 11,2 [9,6; 13,4], MFI и на 3 сутки 7,03 [5,74; 7,67] MFI, при $p<0,01$). Критическим фактором активации Т-клеток является экспрессия α-цепи рецептора IL-2 – молекулы CD25, которая значительно повышает сродство рецептора к IL-2 [10]. Эксперименты показали, что уровень экспрессии CD25, при активации под действием ConA повышался, однако изменения не были статистически достоверны.

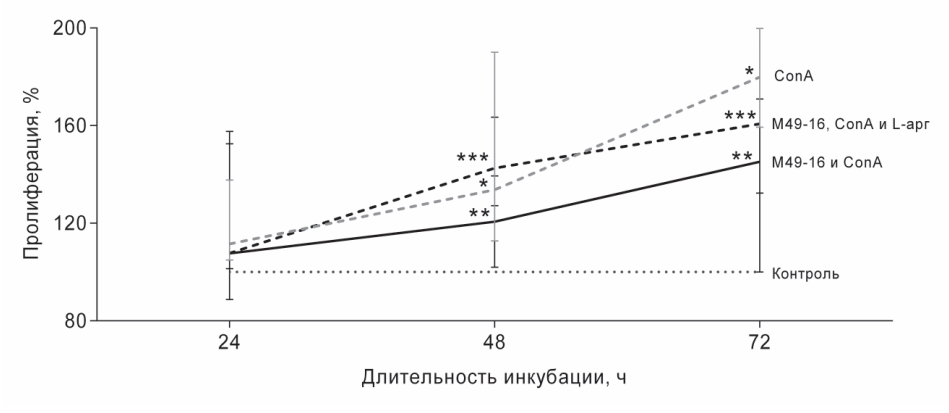
СРС *S. pyogenes* М49-16 усиливал активацию клеток, индуцированную ConA. Это проявлялось повышением уровня экспрессии CD25 на 2 сутки (0,85 [0,79; 1,78] MFI – при стимуляции ConA и 1,63 [0,95; 10,77] MFI при стимуляции ConA с добавкой СРС *S. pyogenes* М49-16, при $p<0.01$), а также повышением уровня CD69 на 2 сутки (11,2 [9,6; 13,4] MFI – при стимуляции ConA и 23,5 [19,9; 26,9] MFI при стимуляции ConA с добавкой СРС *S. pyogenes* М49-16, при $p<0,05$) и на 3 сутки (7,03 [5,74; 7,67] MFI – при стимуляции ConA и 15,00 [12,73; 19,2] MFI при стимуляции ConA с добавкой СРС *S. pyogenes* М49-16, при $p<0,01$). СРС *S. pyogenes* М49-16 также повышал индуцированную ConA продукцию IL-2, но этот эффект не был достоверным.

В присутствии ConA регистрировали достоверное повышение пролиферативной активности клеток (рисунок 1). При этом, СРС *S. pyogenes* М49-16 достоверно подавлял пролиферацию клеток, стимулированную под влиянием ConA на 2 и 3 сутки культивирования.

В передаче сигналов активации и пролиферации участвует CD3 – субъединица Т-клеточного рецепторного комплекса [12]. Активация Т-клеток антигеном, антителами против CD3 или фармакологическими активаторами протеинкиназы С приводит к повышенной интернализации CD3 с последующим снижением уровня этой молекулы на поверхности клеток. После интернализации CD3 могут либо вступать в процесс рециркуляции, либо подвергаться деградации в фаголизосомах [13]. Наши исследования

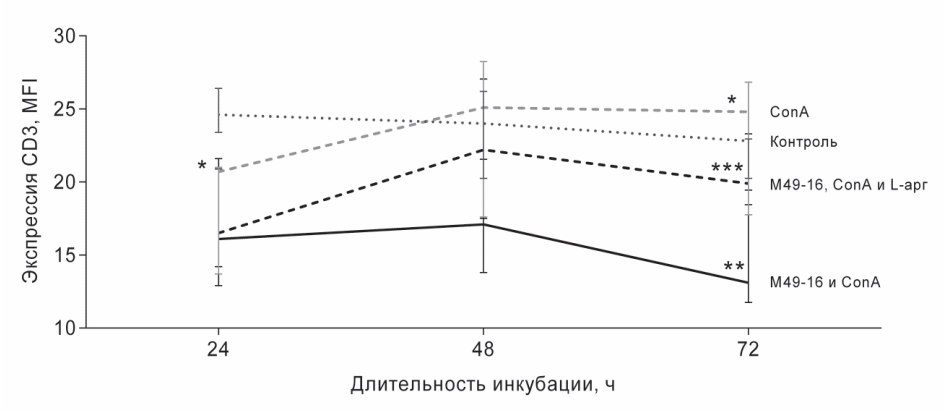
демонстрируют, что при активации клеток под влиянием ConA на 1 сутки происходило достоверное снижение уровня CD3, однако на 2 и 3 сутки экспрессия этой молекулы восстанавливалась до исходных значений (рисунок 2). При активации клеток в присутствии СРС *S. pyogenes* M49-16 уровень CD3 также снижался на первые сутки, но на вторые сутки не восстанавливался, а продолжал снижаться и последующие 72 часа инкубации был почти в 2 раза ниже контроля стимуляции (инкубация в присуствии ConA). Подавление экспрессии CD3 и пролиферации клеток было обусловлено снижением аргинина в среде, потому что введение добавки аргинина нивелировало действие СРС *S. pyogenes* M49-16, так что уровень CD3 и пролиферативная активность клеток на 3 сутки восстанавливались.

Ингибирующее пролиферацию и экспрессию CD3 действие СРС *S. pyogenes* M49-16 могло быть связано с его токсическими эффектами. Поэтому в заключении, мы исследовали жизнеспособность клеток в разных экспериментальных условиях. Было установлено, что доля живых клеток в контроле составила 91,7 [89,8; 92,18] % в 1 день, 80 [78,13; 80,83] % во 2 день и 77,45 [70,8; 78,5] % в 3 день эксперимента. Достоверно отличий жизнеспособности клеток во всех условиях культивирования выявлено не было.



ConA в концентрации 5 мкг/мл, разведение СРС 1/400, концентрация L-аргинина 1 мМ. Данные представлены как MFI, Med [Q25; Q75], n=5-6. * - Отличия от контроля (без стимуляции), достоверны при p<0,001; ** - Отличия от ConA, достоверны при p<0,001; *** - Отличия от СРС M49-16 и ConA, достоверны при p<0,01.

Рис.1.
Влияние супернатанта разрушенных стрептококков *S. pyogenes* M49-16 на пролиферацию мононуклеарных лейкоцитов периферической крови



ConA в концентрации 5 мкг/мл, разведение СРС 1/400, концентрация L-аргинина 1 мМ. Данные представлены как MFI, Med [Q25; Q75], n=5-6. * - Отличия от контроля (без стимуляции), достоверны при p<0,01; ** - Отличия от ConA, достоверны при p<0,01; *** - Отличия от СРС M49-16 и ConA, достоверны при p<0,01.

Рис.2.
Влияние супернатанта разрушенных стрептококков *S. pyogenes* M49-16 на экспрессию CD3 мононуклеарными лейкоцитами периферической крови

Заключение. Наши исследования демонстрируют, что стрептококковая АДИ может служить фактором, который за счет истощения аргинина нарушает нормальное развитие иммунных реакций. Снижение пролиферации Т-лимфоцитов, вызванное влиянием стрептококковой АДИ обусловлено нарушением функции Т-клеточного рецепторного комплекса, а именно снижением уровня экспрессии CD3, но не связано с подавлением эффектов IL-2.

Исследование выполнено в рамках государственного задания Института экспериментальной медицины, FGWG-2025-0004 (рег. № 1022041101001-1).

Список литературы:

1. *Martí i Líndez, A. A., Reith W. Arginine-dependent immune responses/ A. A. Martí i Líndez, W. Reith // Cellular and Molecular Life Sciences. – 2021. – Vol. 78. – № 13. P. 5303–5324.*
2. *Marquis, R.E. Arginine deiminase system and bacterial adaptation to acid environments / R.E. Marquis, G.R. Bender, D.R. Murray, A. Wong // Appl Environ Microbiol. – 1987. – Vol. 53. – № 1. – P. 198-200.*
3. *Walker, M.J. Disease Manifestations and Pathogenic Mechanisms of Group A Streptococcus/ M.J. Walker T.C. Barnett, J.D. McArthur et al. //Clin. Microbiol. Rev. – 2014. – Vol. 27. P. 264–301*
4. *Anderson, J. Immune signature of acute pharyngitis in a Streptococcus pyogenes human challenge trial/ J. Anderson , S. Imran., H.R. Frost et al. // Nat Commun. – 2022. – Vol. 13. – P. 769.*

5. *Starikova, E.A. S. pyogenes M49-16 arginine deiminase inhibits proliferative activity of human peripheral blood lymphocytes/ E.A. Starikova, T.A. Leveshko, D.V. Churakina et al. // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet. – 2021. – Vol. 11. – № 2. – P. 349–356.*
6. *Старикова, Э.А. Влияние стрептококковой аргининдеиминазы на дифференцировку Th17-лимфоцитов in vitro/ Э.А. Старикова, Д.Т. Маммедова, А.В. Соколови др. // Цитокины и воспаление. – 2024. – Т. 21. – №2. – С. 111-120.*
7. *Starikova, E.A. Streptococcal Arginine Deiminase Inhibits T Lymphocyte Differentiation In Vitro/ E.A. Starikova, J.T. Mammedova, A. Ozhiganovaet al. // Microorganisms. – 2023. – Vol. 11. – P. 2585.*
8. *Starikova, E.A. Role of arginine deiminase in thymic atrophy during experimental Streptococcus pyogenes infection / E.A. Starikova, A.S. Golovin, K.A. Vasilyev et al. // Scandinavian Journal of Immunology. - 2019. - Vol. 89, № 2. - P. e12734*
9. *Love, P.E. Early events in TCR signaling - the evolving role of ITAMs/ P.E. Love, T. Hatzihristidis, J. Bryant, G. Gaud // Front Immunol. – 2025. – Vol. 16. – P. 1563049.*
10. *Shouse, A. Interleukin-2 signaling in the regulation of T cell biology in autoimmunity and cancer / A. Shouse, K. LaPorte, T. Malek // Immunity. – 2024. – Vol. 57. – P. 414-428.*
11. *Cibrián, D, Sánchez-Madrid, F. CD69: from activation marker to metabolic gatekeeper/ D. Cibrián, F. Sánchez-Madrid // Eur J Immunol. – 2017. – Vol. 47. – № 6. – P. 946-953.*
12. *Liu, D. Key links in the physiological regulation of the immune system and disease induction: T cell receptor -CD3 complex/ D. Liu, X. Hu, Z. Chen, et al. // Biochem Pharmacol. – 2024. – Vol. 227. – P. 116441. doi: 10.1016/j.bcp.2024.116441. Epub 2024 Jul 17. PMID: 39029632*
13. *Alcover, A., Alarcon, B. Internalization and Intracellular Fate of TCR-CD3 Complexes / A. Alcover, B. Alarcon // Critical Review in Immunology. – 2000. – Vol. 20. – № 4. – P. 325-346.*

✶ ✶ ✶

ВИРУС-БАКТЕРИАЛЬНЫЙ СИНЕРГИЗМ И ДИСБИОЗ МИКРОБИОТЫ КАК КЛЮЧЕВЫЕ ФАКТОРЫ ТЯЖЁЛЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ СУПЕРИНФЕКЦИЙ: ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ И НОВЫЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ МИШЕНИ

Меньшиков М.А., Орлова Е.С.
Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Аннотация. *В обзоре систематизированы молекулярные механизмы синергизма респираторных вирусов (грипп, SARS-CoV-2) с бактериальными патогенами (S. pneumoniae, S. aureus, H. influenzae). Показано, что вирусная инфекция модифицирует рецепторный аппарат, нарушает мукоцилиарный клиренс и индуцирует иммунопаралитический профиль, способствуя бактериальной колонизации. Дисбиоз микробиоты носоглотки коррелирует с риском пневмонии. Обсуждаются альтернативные стратегии: ингибиторы нейраминидазы, фаговые эндолизины и иммуномодуляторы, а также персонализированная коррекция микробиоценоза.*

Ключевые слова: *вирусно-бактериальная ко-инфекция, суперинфекция, микробиота дыхательных путей, дисбиоз, противовирусные препараты, фаготерапия, иммуномодуляция.*

Введение. Основная доля летальных исходов при тяжёлых респираторных вирусных инфекциях (грипп, COVID-19) приходится на вторичные бактериальные пневмонии. Частота бактериальных суперинфекций при гриппе достигает значительных значений, а летальность при ко-инфекции в разы выше, чем при моноинфекции [1, 2]. Согласно обзору Скрябиной А.А. с соавт., до 65% лабораторно подтверждённых случаев гриппа сопровождаются бактериальной инфекцией, особенно у пациентов из групп риска [3].

Долгое время бактерии рассматривали как пассивных оппортунистов, однако современные данные указывают на активный двусторонний синергизм, при котором вирус изменяет экосистему слизистых, а бактерии усиливают вирусную репликацию и воспаление [4]. Ключевая роль принадлежит микробиоте дыхательных путей: её состав определяет колонизационную резистентность. В работах Панькова А.С. показано, что при гриппе возникают значительные нарушения микросимбиоценоза верхних дыхательных путей с повышением экспрессии факторов патогенности и персистенции [5, 6].

Проблема усугубляется ростом антибиотикорезистентности и неэффективностью эмпирической терапии при суперинфекциях, что требует пересмотра подходов с учётом молекулярных механизмов синергизма и состояния микробиоты.

Цель. На основе анализа современных литературных данных, включая отечественные публикации, систематизировать патогенетические механизмы вирусно-бактериального синергизма при респираторных инфекциях, оценить роль дисбиоза микробиоты как модифицируемого фактора риска и обосновать перспективные терапевтические стратегии, направленные не на прямое уничтожение возбудителя, а на восстановление экосистемы слизистой и прерывание межвидовых сигнальных путей.

Материалы и методы. Проведён обзор публикаций за период 2009–2026 гг. в базах PubMed, Scopus, eLibrary и CyberLeninka по ключевым словам: «viral-bacterial synergy», «superinfection», «respiratory microbiome», «influenza», «SARS-CoV-2», «Streptococcus pneumoniae», «Staphylococcus aureus», «phage therapy», «immunomodulation», а также по российским публикациям, посвящённым вирусно-бактериальным ассоциациям, микробиоценозу дыхательных путей и фаготерапии. Глубина анализа – 17 лет с акцентом на работы, содержащие молекулярно-биологические и клинические данные.

Результаты и обсуждение. Основой вирусно-бактериального синергизма служат молекулярные события на поверхности респираторного эпителия. Вирусы гриппа А и SARS-CoV-2 экспрессируют поверхностные гликопротеины (гемагглютинин-нейраминидаза и спайковый белок S), которые не только обеспечивают проникновение в клетку, но и модифицируют гликокаликс эпителия дыхательных путей. Нейраминидаза вируса гриппа отщепляет сиаловые кислоты с поверхности клеток, обнажая рецепторы к фактору активации тромбоцитов (PAF-R), к которым с высокой аффинностью прикрепляются пневмококки и H. influenzae [7]. У SARS-CoV-2 подобный эффект опосредован активацией рецептора ACE2 и трансмембранной сериновой протеазой TMPRSS2, которые усиливают адгезию S. aureus к базальной мембране [8]. Как отмечают Скрябина А.А. с соавт., вирус гриппа способен повреждать клетки эпителия дыхательных путей и ингибировать механизмы мукоцилиарного клиренса, а после бактериальной колонизации развитие заболевания происходит благодаря специфическим характеристикам вирусной инфекции, которые облегчают адгезию и проникновение бактерий [3]. Одновременно вирус подавляет мукоцилиарный клиренс – снижается частота биения ресничек и секреция муцинов, что нарушает эвакуацию бактерий из нижних дыхательных путей. В экспериментах на мышах показано, что даже низкие дозы вируса гриппа увеличивают бактериальную нагрузку S. pneumoniae в лёгких в 100–1000 раз уже через 72 часа [9].

Параллельно с изменением рецепторного аппарата вирусная инфекция запускает глубокие иммунологические нарушения. Индукция интерферонов типа I (IFN-α/β), необходимых для противовирусной защиты, парадоксальным образом подавляет активность альвеолярных макрофагов в отношении фагоцитированных бактерий – это явление получило название «IFN-опосредованный бактериальный иммунопаралич» [10]. Кроме того, вирус стимулирует продукцию IL-10 и TGF-β, которые ингибируют Т-хелперы 17 (Th17) и снижают продукцию антимикробных пептидов (LL-37, β-дефензины) эпителием [11]. В результате бактерии переходят в состояние персистенции внутри макрофагов, становясь недоступными для бета-лактамных антибиотиков. С другой стороны, бактерии сами активируют провоспалительные сигнальные пути (TLR2, TLR4), что в сочетании с вирус-индуцированным NLRP3-инфламмасомным ответом приводит к избыточному выбросу IL-6, TNF-α и IL-1β – так называемому цитокиновому шторму. Именно этот гипервоспалительный ответ, а не сами микроорганизмы, является главной причиной острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) [12]. В альвеолярных макрофагах, нейтрофилах, дендритных и NK-клетках изменяются цитокиновые профили, вследствие чего нарушаются функции указанных клеток, что приводит к усилению воспалительной реакции и снижению эрадикации бактерий [3].

Важнейшим модифицирующим фактором, определяющим исход ко-инфекции, выступает резидентная микробиота верхних дыхательных путей. В здоровом состоянии она представлена комменсалами (нейссерии, непатогенные стрептококки, моракселлы),

которые конкурируют за рецепторы и питательные вещества с патогенами. При вирусной инфекции снижается продукция лактоферрина, лизоцима и секреторного IgA, что ведёт к элиминации комменсалов и экспансии патобионтов. Как показано в исследованиях Панькова А.С., вирусо-бактериальные взаимоотношения при гриппе in vitro и in vivo характеризуются взаимным усилением факторов патогенности и персистенции ассоциантов, что способствует дисбиозу верхних дыхательных путей с преобладанием патогенной флоры и развитию бактериальных осложнений [5, 6]. У больных гриппом с бактериальными осложнениями микрофлора чаще формирует ассоциации по сравнению с микрофлорой от больных гриппом без осложнений [13]. Метагеномные исследования показали, что за 48–72 часа до клинической манифестации вторичной пневмонии происходит резкое снижение альфа-разнообразия микробиоты с доминированием одного патогена [14]. Более того, дисбиоз может сохраняться несколько недель после выздоровления, повышая уязвимость к повторным инфекциям. Особый интерес представляет феномен «вирусного прайминга» бактерий – эксперименты in vitro продемонстрировали, что S. aureus и H. influenzae повышают экспрессию генов адгезинов и токсинов в ответ на IFN-α, выделяемый вирусинфицированными клетками. Таким образом, бактерии активно «чувствуют» вирусное воспаление и усиливают свою вирулентность [15]. Паньковым А.С. установлено, что усиление экспрессии факторов патогенности вируса гриппа и золотистого стафилококка в ассоциации является важным звеном патогенеза заболевания и может быть использовано для прогнозирования его течения [5]. При повышении значений гемолитической активности штамма S. aureus более 1 мм бактериальные осложнения при гриппе развивались в 56,5 ± 5,4% случаев, при повышении значений антилизоцимной активности более 1 мкг/мл – в 58,8 ± 5,3% случаев [6].

Сложность патогенеза суперинфекции напрямую отражается на неэффективности традиционной антибиотикотерапии. Эмпирическое назначение антибиотиков широкого спектра при подозрении на суперинфекцию часто оказывается несостоятельным по двум основным причинам: во-первых, бактерии в биоплёнках и внутриклеточных нишах малодоступны для большинства препаратов; во-вторых, массовая гибель бактерий под действием антибиотиков вызывает выброс эндотоксинов (ЛПС) и бактериальных ДНК, что дополнительно запускает TLR-сигналинг и усугубляет цитокиновый шторм [16]. В связи с этим в последние годы активно разрабатываются альтернативные подходы. Ингибиторы вирусной нейраминидазы (осельтамивир) – раннее их применение не только подавляет репликацию вируса, но и уменьшает обнажение PAF-рецепторов для бактерий, снижая риск пневмонии [17]. В российском многоцентровом наблюдательном исследовании с участием 1867 пациентов из групп высокого риска (сезон 2023–2024 гг.) показано, что этиотропные препараты осельтамивир и умифеновир продемонстрировали сопоставимую эффективность в снижении частоты бактериальных осложнений и длительности заболевания, что позволяет рекомендовать оба препарата для лечения гриппа у пациентов высокого риска [18]. Фаговые эндолизины – ферменты, расщепляющие пептидогликан бактериальной стенки, действуют быстро и не вызывают выброса эндотоксинов, а также активны против биоплёнок. Как отмечают Воробьёв А.М., Алешкин А.В. с соавт., эндолизины представляют собой одно из перспективных направлений в борьбе с полирезистентными возбудителями, и их эффективность показана для лечения ряда бактериальных инфекций, в том числе вызванных полирезистентными микроорганизмами [19]. Учёные из Института химической биологии и фундаментальной медицины

СО РАН разрабатывают препараты на основе рекомбинантных эндолизинов бактериофагов для борьбы со стафилококковыми инфекциями; эндолизины разрушают оболочку устойчивых к антибиотикам бактерий, нейтрализуя их и препятствуя дальнейшему развитию заболевания, а также препятствуют образованию опасных бактериальных плёнок [20, 21]. В доклинических моделях эндолизин Cpl-1 показал высокую выживаемость мышей при пневмококковой суперинфекции на фоне гриппа [22]. Иммуномодуляция – применение GM-CSF (гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора) восстанавливает фагоцитарную активность макрофагов в присутствии IFN-α, что подтверждено в модели на человеческих макрофагах [23]; также изучаются ингибиторы IL-6R (тоцилизумаб) для купирования цитокинового шторма без потери антимикробной защиты. Таким образом, будущая терапевтическая стратегия должна быть комплексной, сочетающей подавление вирусной репликации, селективную элиминацию патогенов и коррекцию иммунного дисбаланса с обязательным учётом исходного микробиотного статуса пациента.

Заключение. Респираторная суперинфекция является результатом активного молекулярного взаимодействия между вирусом, бактериями и микробиотой хозяина. Традиционная антибиотикотерапия без учёта этого синергизма и состояния микробиоты часто неэффективна и даже вредна. Перспективным представляется разработка комбинированных протоколов, включающих ранние противовирусные препараты, фаговые эндолизины для селективной эрадикации патогенов и иммуномодуляторы для коррекции дисфункции макрофагов. Необходимы дальнейшие клинические исследования, оценивающие микробиомные биомаркеры для прогнозирования риска суперинфекции и персонализированного выбора терапии.

Выводы. Вирусы гриппа и SARS-CoV-2 индуцируют рецепторные и иммунологические изменения, способствующие адгезии и персистенции бактериальных патогенов, а дисбиоз микробиоты верхних дыхательных путей выступает ранним предиктором вторичной пневмонии. Стандартные антибиотики при суперинфекциях ограниченно эффективны из-за внутриклеточной локализации бактерий и эндотоксинового эффекта, тогда как альтернативные стратегии – ингибиторы нейраминидазы, фаговые эндолизины и иммуномодуляторы – показывают многообещающие результаты. Внедрение мониторинга микробиотного состава (например, метагеномное секвенирование мазков из носоглотки) способно повысить прогностическую точность и обоснованность антимикробной терапии, открывая перспективы персонализированного подхода.

Список литературы:

1. *Morens D.M., Taubenberger J.K., Fauci A.S. Predominant role of bacterial pneumonia as a cause of death in pandemic influenza: implications for pandemic influenza preparedness // Clinical Infectious Diseases. – 2008. – Vol. 46, № 7. – P. 1101–1106.*
2. *Zhou F., Yu T., Du R., et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study // The Lancet. – 2020. – Vol. 395, № 10229. – P. 1054–1062.*
3. *Скрябина А.А., Никифоров В.В., Шахмарданов М.З., Застрожин М.С. Бактериальные осложнения гриппа (обзор литературы) // Лечащий врач. – 2023. – № 7. – С. 8–14.*

4. *McCullers J.A. The co-pathogenesis of influenza viruses with bacteria in the lung // Nature Reviews Microbiology. – 2014. – Vol. 12, № 4. – P. 252–262.*
5. *Паньков А.С. Микробиоценоз дыхательной системы и межмикробные взаимодействия при гриппе : дис. канд. мед. наук. – Оренбург, 2013. – 158 с.*
6. *Паньков А.С. Прогнозирование постгриппозных осложнений с учетом вирусно-бактериальных ассоциаций // Инфекция и иммунитет. – 2013. – Т. 3, № 2. – С. 145–150.*
7. *McCullers J.A., Rehg J.E. Lethal synergism between influenza virus and Streptococcus pneumoniae: characterization of a mouse model and the role of platelet-activating factor receptor // Journal of Infectious Diseases. – 2002. – Vol. 186, № 3. – P. 341–350.*
8. *Diao B., Wang C., Tan Y., et al. Reduction and functional exhaustion of T cells in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) // Cell Research. – 2021. – Vol. 31, № 1. – P. 71–79.*
9. *Smith A.M., Adler F.R., Ribeiro R.M., et al. Kinetics of coinfection with influenza A virus and Streptococcus pneumoniae // Journal of Virology. – 2019. – Vol. 93, № 1.*
10. *Shahangian A., Chow E.K., Tian X., et al. Type I IFNs mediate development of postinfluenza bacterial pneumonia in mice // Nature Medicine. – 2009. – Vol. 15, № 10. – P. 1186–1192.*
11. *Robinson K.M., Choi S.M., McHugh K.J., et al. Influenza A virus exacerbates Staphylococcus aureus pneumonia in mice by attenuating antimicrobial peptide production // Mucosal Immunology. – 2015. – Vol. 8, № 4. – P. 828–839.*
12. *Choi S.M., McAleer J.P., Zheng M., et al. Pneumococcal neuraminidase-induced inflammation and epithelial damage during influenza coinfection // mBio. – 2021. – Vol. 12, № 3. 13. Паньков А.С. Ассоциативный симбиоз при гриппе // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2012. – № 2. – С. 84–87.*
14. *Pettigrew M.M., Gent J.F., Kong Y., et al. Association of the respiratory microbiome with the risk of pneumonia in patients with influenza // American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. – 2020. – Vol. 202, № 6. – P. 838–847.*
15. *Parker D., Prince A. Staphylococcus aureus and influenza virus: a dangerous liaison // Infection and Immunity. – 2018. – Vol. 86, № 5.*
16. *Hotchkiss R.S., Moldawer L.L., Opal S.M., et al. Sepsis and septic shock // Nature Reviews Disease Primers. – 2019. – Vol. 5, № 1. – P. 45.*
17. *Muthuri S.G., Venkatesan S., Myles P.R., et al. Effectiveness of neuraminidase inhibitors in reducing mortality in patients admitted to hospital with influenza A H1N1pdm09 virus infection: a meta-analysis of individual participant data // The Lancet Respiratory Medicine. – 2014. – Vol. 2, № 5. – P. 395–404.*
18. *Tokin I., et al. Antiviral therapy for influenza in high-risk outpatients: a multicenter observational study of routine clinical practice in Russia // Therapeutic Advances in Infectious Disease. – 2025. – Vol. 12. – DOI: 10.1177/20499361251347726.*
19. *Воробьёв А.М., Анурова М.Н., Алешкин А.В., Киселева И.А., Багандова К.М. Эндолизины и перспективы их применения для лечения инфекций, вызванных полирезистентными бактериями (обзор) // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2022. – Т. 24, № 3. – С. 234–245.*

20. *Разработан препарат против стафилококка на основе белков-эндолизинов // Сайт Российской академии наук. – 2025. – URL: https://new.ras.ru (дата обращения: 26.06.2026).*
21. *Учёные из Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН разрабатывают препараты на основе рекомбинантных эндолизинов бактериофагов для борьбы со стафилококковыми инфекциями // Сайт СО РАН. – 2025. – URL: https://www.sbras.ru (дата обращения: 26.06.2026).*
22. *McCullers J.A., Kollipara N., Toth K., et al. Bacteriophage endolysin Cpl-1 as a therapeutic agent against pneumococcal pneumonia in a mouse model of influenza coinfection // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2022. – Vol. 66, № 4.*
23. *Sun K., Metzger D.W. GM-CSF protects against bacterial pneumonia during influenza infection // Nature Immunology. – 2020. – Vol. 21, № 8. – P. 894–904.*

✶ ✶ ✶

ГАБИТУАЦИЯ ОБЪЁМНОЙ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ НЕЙРОТРАНСМИССИИ КАК ПРОЯВЛЕНИЕ НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТИ: ОБЗОР ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ДАННЫХ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Мухин В.Н., Клименко В.М.
Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Аннотация. *В обзоре на основе собственных и литературных данных обосновывается, что прогрессивное уменьшение фазических выбросов дофамина при повторной стимуляции дофаминергических нервных путей является габитуацией, — формой неассоциативного научения, — локализованной на уровне нервных окончаний и опосредованной киназой гликоген-синтазы 3. Обсуждается модуляция габитуации β-амилоидом и её значение для понимания дофаминергической дисфункции при болезни Альцгеймера. Рассмотрение данного механизма открывает новые перспективы для поиска подходов к коррекции нарушений дофаминовой передачи при нейродегенеративных заболеваниях, в частности, с использованием лития.*

Ключевые слова: *габитуация, дофамин, нейропластичность, объёмная нейротрансмиссия, быстро-сканирующая циклическая вольтамперометрия, болезнь Альцгеймера.*

Введение. Нейропластичность — фундаментальное свойство нервной системы, обеспечивающее адаптацию, научение и память. Её изучение традиционно фокусируется на синаптических формах, таких как долговременная потенциация и депрессия. Однако значительно меньше внимания уделяется пластичности объёмной (экстрасинаптической) нейротрансмиссии, при которой нейромедиатор действует за пределами синаптической щели, модулируя активность популяций нейронов и глиальных клеток [1].

Дофаминергическая система является одной из ключевых моделей для изучения объёмной передачи. Её фазические сигналы — кратковременные (до нескольких секунд) повышения внеклеточной концентрации дофамина (ФПД) — являются основным нейрохимическим сигналом ошибки предсказания и лежат в основе научения с подкреплением [2]. В экспериментах на животных при многократной стимуляции дофаминергических путей с интервалом в несколько минут наблюдается прогрессивное уменьшение величины ФПД [3, 4]. Традиционно это явление интерпретировалось как утомление — истощение депонированного пула дофамина в терминалях [5].

Однако накопленные данные, включая наши собственные, позволяют предложить альтернативное объяснение: уменьшение фазических повышений уровня внеклеточного дофамина (УФПД) является не утомлением, а габитуацией — простейшей формой неассоциативного научения [6]. В отличие от утомления, габитуация представляет собой активный пластический процесс, обладающий характерными признаками: выходом на асимптотический уровень, спонтанным восстановлением, дизгабитуацией и зависимостью от параметров стимула.

Цель данного обзора — проанализировать соответствие явления уменьшения фазических повышений уровня внеклеточного дофамина в мозге критериям габитуации, обсудить предполагаемые клеточно-молекулярные механизмы, оценить возможную роль в патологических процессах, в частности, болезни Альцгеймера, а также оценить терапевтический потенциал лития.

ГАБИТУАЦИЯ КАК ФОРМА НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТИ НА УРОВНЕ ТЕРМИНАЛЕЙ

Габитуация на поведенческом уровне хорошо охарактеризована: это прогрессивное уменьшение ответа на повторяющийся стимул, которое не объясняется сенсорной адаптацией или утомлением [6]. Характерные признаки габитуации включают: (1) прогрессивное снижение ответа до асимптотического уровня; (2) спонтанное восстановление после прекращения стимуляции; (3) дизгабитуацию — временное восстановление ответа при вмешательстве нового или значимого стимула; (4) зависимость скорости развития и выраженности габитуации от силы и частоты стимула.

Сравнение динамики УФПД с этими критериями, проведённое на основе наших экспериментов с быстро-сканирующей циклической вольтамперометрией (БСЦВА), показало их полное соответствие [7]. В частности, в сердцевине прилежащего ядра у большинства крыс наблюдалось прогрессивное уменьшение ФПД с последующим выходом на асимптотический уровень, а у части животных — спонтанные колебания, напоминающие дизгабитуацию. Обобщение данных по контрольным группам из нескольких экспериментов выявило положительную зависимость скорости УФПД от силы стимулирующего тока [7].

Важнейшим доказательством является локализация механизма. Эксперименты на коронарных срезах мозга, содержащих дорзальный стриатум, показали, что УФПД сохраняется в отсутствие тел дофаминергических нейронов (расположенных в вентральной области покрышки и чёрной субстанции) [7]. Это означает, что для развития габитуации не требуется проведения сигнала от тела нейрона по аксону; ключевые процессы реализуются в терминалях и/или их клеточном микроокружении. Данный результат не исключает участия постсинаптических структур (в том числе ретроградной сигнализации), но чётко указывает на локальный характер механизма, что отличает его от синаптических форм пластичности, требующих интеграции сигналов на уровне тел нейронов.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ МЕХАНИЗМА ГАБИТУАЦИИ

Для понимания природы габитуации важно установить, какой из двух процессов — снижение выброса дофамина или усиление его обратного захвата — лежит в основе уменьшения ФПД. Для раздельной оценки этих процессов мы применили кинетический анализ, основанный на подгонке параметров математической модели, описывающей изменение внеклеточной концентрации дофамина во времени [8]. Модель включает два ключевых параметра: DAp — величина выброса дофамина в ответ на один стимулирующий импульс, и Vmax — максимальная скорость обратного захвата.

Анализ данных, полученных в экспериментах на срезах дорзального стриатума, показал, что УФПД сопровождается достоверным снижением параметра DAp, тогда как параметр Vmax остаётся неизменным [7]. Аналогичные результаты были получены при анализе данных in vivo в латеральном дорзальном стриатуме [3]. Таким образом, габитуация ФПД обусловлена снижением выброса дофамина из нервных окончаний, а не усилением его элиминации из внеклеточного пространства.

Этот вывод имеет важное значение для поиска молекулярных механизмов, так как направляет внимание на регуляцию экзоцитоза — процесса слияния синаптических везикул с пресинаптической мембраной. В качестве возможных мишеней могут выступать белки SNARE-комплекса, белки, регулирующие приток кальция в терминаль, или компоненты везикулярного цикла (например, синаптотагмин или Munc-13).

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ И МОДУЛЯЦИЯ ГАБИТУАЦИИ

Среди молекулярных кандидатов, вовлечённых в механизм габитуации, ключевое место занимает киназа гликоген-синтазы 3 (GSK3). Этот фермент является важным регулятором синаптической пластичности, выживаемости нейронов и внутриклеточной сигнализации [9]. В наших экспериментах использование ингибитора GSK3 — лития в малых «терапевтических» дозах (10,4 мг/кг хлорида лития) — полностью отменяло развитие габитуации в оболочке прилежащего ядра [4]. Аналогичный эффект наблюдался и в сердцевине прилежащего ядра [7]. Эти данные свидетельствуют о вовлечённости GSK3 в исследуемый процесс и позволяют предположить, что фосфорилирование GSK3-зависимых субстратов является необходимым звеном для развития габитуации.

Другим важным регуляторным звеном могут быть холинергические интернейроны стриатума. Эти клетки, составляющие около 1–3% нейрональной популяции, образуют синаптические контакты с дофаминергическими терминалями и модулируют выброс дофамина через никотиновые и мускариновые рецепторы [10]. Синхронная активность холинергических интернейронов способна вызывать выброс дофамина даже в отсутствие стимуляции самих дофаминергических нейронов [11]. Можно предположить, что десенситизация никотиновых рецепторов на дофаминергических терминалях при повторных эпизодах холинергической стимуляции могла бы вносить вклад в механизм габитуации, однако это требует экспериментальной проверки.

Особый интерес представляет модуляция габитуации β-амилоидом (Aβ) — ключевым фактором патогенеза болезни Альцгеймера. Острое введение Aβ (фрагмент 25–35) в желудочки мозга крыс временно отменяет габитуацию в оболочке прилежащего ядра: в течение первых 48 минут после инъекции величина ФПД не уменьшается, а даже временно возрастает [4]. В латеральном дорзальном стриатуме Aβ также препятствует развитию габитуации [3]. Это указывает на то, что дофаминергическая дисфункция при болезни Альцгеймера может проявляться не только в изменении амплитуды выброса, но и в нарушении его пластических свойств.

Требует обсуждения парадокс совместного действия Aβ и лития: по отдельности оба вещества подавляют габитуацию (т.е. увеличивают величину ФПД по сравнению с контролем). Однако, при совместном введении, их эффекты взаимно подавляются: величина ФПД не отличается от контрольной группы, в которой габитуация развивается в

полной мере [4]. Этот парадокс находит объяснение в рамках модели инвертированной U-образной зависимости эффекта от активности GSK3 [12]. Aβ активирует GSK3 [9], тогда как литий является её ингибитором [13]. По отдельности каждый из этих агентов сдвигает активность GSK3 от оптимума (вверх — в случае Aβ, вниз — в случае лития), что приводит к ослаблению габитуации. Однако при совместном действии их влияния на активность GSK3 компенсируют друг друга, возвращая её к оптимальному (среднему) уровню. В результате габитуация развивается так же, как и в контрольной группе. Таким образом, парадокс Aβ+литий является примером нелинейной регуляции габитуации, в которой конечный эффект определяется не просто наличием или отсутствием агента, а его влиянием на активность ключевого фермента — GSK3. Это также подтверждает, что GSK3 является центральным звеном в механизме габитуации.

Заключение. Габитуация фазических выбросов дофамина как проявление пластичности объёмной нейротрансмиссии представляет собой новый, ранее неизвестный феномен. В отличие от описанной в литературе габитуации тонического уровня дофамина [14], нами впервые охарактеризована габитуация быстрых (субсекундных) вызванных повышений внеклеточного дофамина, отражающая пластичность самого акта секреции на уровне нервных окончаний.

Ключевые характеристики этого явления — локализация на уровне терминалей (в отсутствие тел нейронов), зависимость от GSK3 и модуляция β-амилоидом — открывают новые перспективы для понимания как фундаментальных принципов регуляции дофаминовой системы, так и патогенеза нейродегенеративных заболеваний.

Дальнейшие исследования должны быть направлены на:

1. идентификацию конкретных субстратов GSK3 в терминалях, ответственных за развитие габитуации;
2. изучение роли холинергических интернейронов и других элементов микроокружения в модуляции габитуации;
3. оценку вклада нарушения габитуации в поведенческие и когнитивные дефициты при моделировании болезни Альцгеймера.

Выводы.

1. Уменьшение ФПД при повторной стимуляции соответствует критериям габитуации — форме неассоциативного научения.
2. Габитуация ФПД реализуется на уровне терминалей и/или их клеточного микроокружения.
3. Габитуация обусловлена снижением выброса дофамина, а не усилением его обратного захвата.
4. GSK3 является ключевым звеном в механизме габитуации; её ингибирование литием отменяет развитие габитуации.
5. β-Амилоид модулирует габитуацию, что указывает на её потенциальную роль в патогенезе дофаминергической дисфункции при болезни Альцгеймера.
6. Способность лития отменять эффект Aβ позволяет рассматривать его как перспективный агент для дальнейших исследований в контексте коррекции дофаминергических нарушений при болезни Альцгеймера.

Список литературы:

1. *Fuxe K. et al. Volume transmission in central dopamine and noradrenaline neurons and its astroglial targets // Neurochem Res. 2015. Vol. 40, No. 12. P. 2600-2614.*
2. *Heien M.L., Wightman R.M. Phasic dopamine signaling during behavior, reward, and disease states // CNS Neurol Disord Drug Targets. 2006. Vol. 5, No. 1. P. 99-108.*
3. *Mukhin V.N., Borovets I.R., Sizov V.V., Pavlov K.I., Klimenko V.M. Differential influence of amyloid-β on the kinetics of dopamine release in the dorsal and ventral striatum of rats // Neurotox Res. 2021. Vol. 39, No. 4. P. 1285-1292.*
4. *Мухин В. Н., Боровец И. Р., Сизов В. В., Павлов К. И., Клименко В. М. β-Амилоид и литий влияют на величину фазических выбросов дофамина в оболочке прилежащего ядра // Журнал высшей нервной деятельности им И. П. Павлова. 2020. Т. 70. № 4. С. 488-499.*
5. *Michael A.C., Ikeda M., Justice J.B. Mechanisms contributing to the recovery of striatal releasable dopamine following MFB stimulation // Brain Res. 1987. Vol. 421, No. 1. P. 325-335.*
6. *McDiarmid T.A., Yu A.J., Rankin C.H. Habituation is more than learning to ignore: multiple mechanisms serve to facilitate shifts in behavioral strategy // BioEssays. 2019. Vol. 41, No. 9. P. 1900077.*
7. *Мухин В.Н., Боровец И.Р., Терехов А.Ю., Клименко В.М. Габитуация фазических выбросов дофамина: гипотеза и подтверждения // Медицинский академический журнал. 2025. Т. 25, № 4. С. 59-66. DOI: 10.17816/MAJ634721.*
8. *Wightman R.M., Amatorh C., Engstrom R.C., et al. Real-time characterization of dopamine overflow and uptake in the rat striatum // Neuroscience. 1988. Vol. 25, No. 2. P. 513-523.*
9. *Maqbool M., Mobashir M., Hoda N. Pivotal role of glycogen synthase kinase-3: A therapeutic target for Alzheimer's disease // Eur J Med Chem. 2016. Vol. 107. P. 63-81.*
10. *Condon M.D., Platt N.J., Zhang Y.F., et al. Plasticity in striatal dopamine release is governed by release-independent depression and the dopamine transporter // Nat Commun. 2019. Vol. 10, No. 1. P. 4263.*
11. *Threlfell S., Lalic T., Platt N.J., Jennings K.A., Deisseroth K., Cragg S.J. Striatal dopamine release is triggered by synchronized activity in cholinergic interneurons // Neuron. 2012. Vol. 75, No. 1. P. 58-64.*
12. *Baldi E., Bucherelli C. The inverted "u-shaped" dose-effect relationships in learning and memory: modulation of arousal and consolidation // Nonlinearity Biol Toxicol Med. 2005. Vol. 3, No. 1. P. 9-21.*
13. *Freland L., Beaulieu J.-M. Inhibition of GSK3 by lithium, from single molecules to signaling networks // Front Mol Neurosci. 2012. Vol. 5.*
14. *De Luca M.A. Habituation of the responsiveness of mesolimbic and mesocortical dopamine transmission to taste stimuli // Front Integr Neurosci. 2014. Vol. 8. P. 21.*

* * *

КОРРЕКЦИЯ КОМПУЛЬСИВНОГО ПЕРЕЕДАНИЯ И СОПУТСТВУЮЩЕЙ ТРЕВОЖНОСТИ У САМОК КРЫС С ПОМОЩЬЮ НОВОГО ПЕПТИДА ЛИЗАГРЕЛ

Надбитова Н.Д.[1], Шамаева С.А.[1], Колобов А.А.[2], Садыкова Д.Р.[1], Сергеева А.Д.[1], Орлова Э.Б.[1], Лебедев А.А.[1], Шабанов П.Д.[1]

[1]Институт экспериментальной медицины,
[2]Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека,
Санкт-Петербург

Аннотация. *Высокая распространенность расстройств пищевого поведения у женщин и их коморбидность с тревожностью обусловливают необходимость поиска новых средств терапевтической коррекции. Цель работы – оценить терапевтическую эффективность нового пептидного аналога антагониста грелина Лизагрела при компульсивном переедании и тревожности у самок крыс. Методика исследования. Компульсивное переедание моделировали с помощью ограниченного прерывистого доступа к высококалорийной шоколадно-кормовой смеси (ШКС). Оценку обсессивно-компульсивного поведения проводили в тесте «закапывание шариков», уровень тревожности – в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт». Исследование проведено на 40 самках крыс линии Вистар массой 200–250 г. Фармакологические вещества. Лизагрел (1мкг/мкл) и препарат сравнения [D-Lys3]-GHRP-6 (1 мкг/мкл) вводили интраназально курсом 7 дней. Результаты исследования. Курсовое введение Лизагрела снизило потребление ШКС более чем в 2 раза ($p<0,001$), уменьшило компульсивность на 74,4% ($p<0,01$) и увеличило время в открытых рукавах лабиринта ($p<0,05$) без признаков седации, проявив анорексигенный и анксиолитический эффекты.*

Ключевые слова: *компульсивное переедание, Лизагрел, рецепторы грелина, тревожность, интраназальная терапия, самки крыс.*

Введение. Расстройства пищевого поведения (РПП) представляют собой гетерогенную группу психосоматических заболеваний, развивающихся вследствие сложного взаимодействия генетических, метаболических и психоэмоциональных факторов [1]. Согласно международным диагностическим классификациям (МКБ-10, DSM-5), данные патологии характеризуются искажением восприятия собственного тела и деструктивными паттернами приема пищи [2]. В клинической практике особый вес имеет компульсивное переедание, выражающееся в эпизодическом потреблении избыточного количества высококалорийной пищи при отсутствии физиологической потребности в энергии [3].

Эпидемиологические исследования указывают на четкую гендерную диморфность данной патологии. Распространенность компульсивного переедания среди женщин существенно выше, чем среди мужчин, достигая в отдельных популяциях 4,45%. У женщин РПП характеризуются высокой коморбидностью (до 75% случаев) с депрессивными и тревожными расстройствами [4]. В основе патогенеза компульсивного переедания лежит гиперстимуляция мезолимбической системы вознаграждения под действием рафинированных углеводов и жиров, что роднит данное состояние с классическими химическими

аддикциями. У женщин отмечается повышенная чувствительность к вознаграждению, формирующая «гедонистический аппетит», при котором поиск удовольствия преобладает над гомеостатической регуляцией и сопровождается гиперактивацией дофаминергических путей [5]. Это приводит к росту толерантности, развитию импульсивности и снижению когнитивного контроля над потреблением и возникновению абстинентного синдрома [6].

Современная фармакотерапия РПП и ассоциированного ожирения имеет существенные ограничения. Психостимуляторы (например, лиздексамфетамин) имеют высокий аддиктивный потенциал и вызывают выраженные кардиоваскулярные осложнения [7]. Анорексигенные средства центрального действия (сибутрамин, римонабант) отозваны или строго ограничены из-за рисков развития депрессии, суицидальной направленности и негативного влияния на сердечно-сосудистую систему [8]. Периферические ингибиторы липаз (орлистат) вызывают выраженный диспепсический синдром, снижающий приверженность к терапии [9]. Агонисты рецепторов ГПП-1 (семаглутид) эффективны для снижения массы тела, однако требуют инъекционного введения и часто сопровождаются гастроинтестинальной непереносимостью [10].

Перспективной мишенью для фармакологической регуляции пищевой аддикции является грелинергическая система. Грелин – орексигенный пептидный гормон, действующий через рецепторы GHSR1A, локализованные не только в гипоталамусе, но и в структурах системы вознаграждения: вентральной области покрышки, прилежащем ядре, гиппокампе и черной субстанции [11]. Грелиновая система вовлечена в ответ на стрессовые стимулы и модулирует дофамин- и опиоидергическую передачу [12].

Цель исследования. Оценить терапевтическую эффективность нового пептидного аналога антагониста грелина Лизагрела при компульсивном переедании и тревожности у самок крыс.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 40 самках крыс линии Вистар массой 200–250 г, полученных из питомника лабораторных животных «Рапполово» (Ленинградская область). Животных содержали в условиях вивария в стандартных пластиковых клетках при температуре 22 ± 2 °C и фиксированном 12-часовом цикле освещения (инвертированный свет: 08:00–20:00) со свободным доступом к воде и корму. Эксперименты проводили в соответствии с Правилами лабораторной практики в Российской Федерации (Приказ Минздрава РФ № 267 от 19.06.2003 г.) и международными нормами гуманного обращения с животных.

Моделирование компульсивного переедания проводили путем ограниченного прерывистого доступа к шоколадно-кормовой смеси (ШКС; паста + стандартный комбикорм) [13], воспроизводящего гедонический поиск вознаграждения, характерный для женского типа РПП. На 1-й неделе крысы (6–7 в клетке) получали ШКС 3 раза в неделю по 1 ч. С 2-й недели животных рассаживали индивидуально и продолжали протокол еще 3 недели. За 15 мин до подачи ШКС размещали в зоне видимости и обоняния без возможности доступа («фаза ожидания»). Свободный доступ к воде и стандартному корму сохранялся постоянно.

Обсессивно-компульсивное поведение и стереотипии оценивали в тесте «закапывание шариков» (Marble Burying Test): крысу на 30 мин помещали в клетку (20×25×17 см) с 20 стеклянными шариками (d = 1,5 см) на 5 см слое опилок. Учитывали количество шариков, закопанных более чем на 2/3 [14].

Уровень коморбидной тревожности оценивали в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ; высота 1 м) [15]. За 3 мин фиксировали время пребывания в открытых и закрытых рукавах (50×10 см), количество переходов, свешиваний и выглядываний.

Животные были разделены на 4 группы (n=10): 1) интактные; 2) контроль (ШКС); 3) ШКС + Лизагрел; 4) ШКС + [D−Lys3]−GHRP−6.

Фармакологические вещества.

1. Новый пептидный аналог антагониста рецепторов грелина Лизагрел разработан в отделе фармакологии им. С.В. Аничкова ФГБНУ «ИЭМ» и синтезирован совместно с ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России. Животным 3-й группы Лизагрел вводили интраназально в дозе 1 мкг/мкл (по 10 мкл в каждую ноздрю) ежедневно в течение 7 дней.

2. Препарат сравнения – антагонист рецепторов грелина [D-Lys3]-GHRP-6 (Tocris Bioscience, Великобритания), растворенный в 0,9% растворе NaCl (1 мкг/мкл), вводили интраназально по аналогичной схеме (по 10 мкл в каждую ноздрю в течение 7 дней).

Статистическая обработка. Статистическую значимость различий оценивали с использованием t-критерия Стьюдента или однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. К 7-м суткам интраназальной терапии Лизагрел продемонстрировал выраженную анорексигенную активность, сопоставимую с препаратом сравнения [D-Lys3]-GHRP-6, снизив потребление высококалорийной смеси более чем в 2 раза относительно контроля ($p < 0,001$; рис. 1).

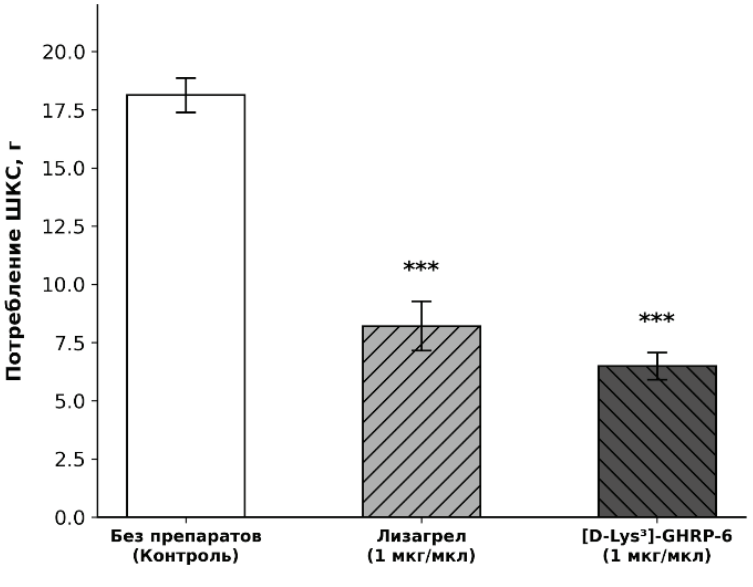


Рис.1.
Потребление ШКС на фоне курсовой терапии препаратами (7 сутки введения)

*Примечание: *** – p<0,001 относительно контроля, ШКС- шоколадно-кормовая смесь*

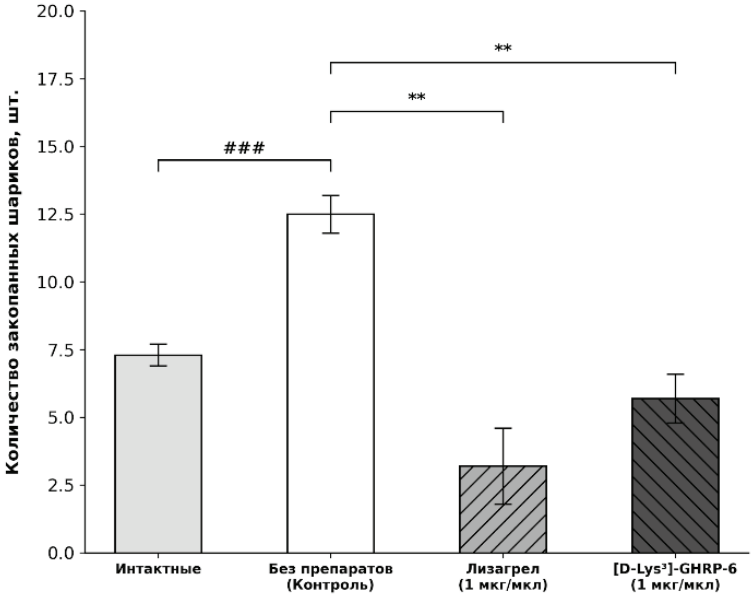


Рис.2.
Влияние курсовой терапии на компульсивное поведение в тесте закапывания шариков

Примечание: ### – p<0,001 относительно интактных животных;
*** – p<0,01 относительно контроля*

Валидность используемой экспериментальной модели подтверждается статистически высокозначимым ростом компульсивной активности у контрольных животных по сравнению с интактной нормой 12,5±0,7 против 7,3±0,4 закопанных шариков, p<0,001). Данный сдвиг отражает формирование стойкого стереотипного и обсессивно-компульсивного поведения на фоне прерывистого потребления высококалорийной диеты, что создаёт достоверную базовую модель для оценки антикомпульсивных свойств новых пептидных агентов. Лизагрел обладает выраженной способностью подавлять обсессивно-компульсивные проявления. К 7-м суткам введения препарата интенсивность закапывания шариков снизилась на 74,4%, что превосходит показатель препарата сравнения [D−Lys3]−GHRP−6 (снижение на 54,4%) (рис.2).

Для оценки влияния заявляемого средства на эмоциональный статус самок крыс с компульсивным перееданием (КП) был проведен тест в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ). Состояние пищевой аддикции у крыс сопровождается высоким уровнем тревожности, что проявляется в предпочтении закрытых (темных) пространств и снижении исследовательской активности. Результаты влияния Лизагрела на показатели тревожности на 7 сутки терапии представлены на рис.3.

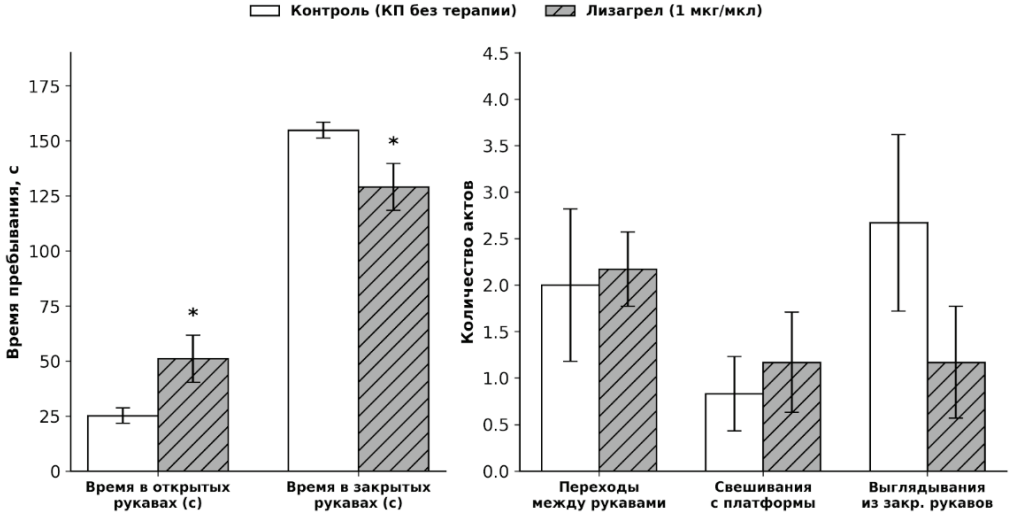


Рис.3.
Показатели поведения самок крыс в тесте ПКЛ на 7 сутки терапии Лиагрелом

Примечание: ∗ − p<0,05 относительно контроля

На 7 сутки интраназального введения Лизагрела наблюдалась достоверная коррекция эмоционального профиля. Время пребывания животных в открытых рукавах увеличилось более чем в 2 раза − до 51,00± 10,75 (p < 0,05), в то время как пребывание в закрытых рукавах пропорционально снизилось. Важным показателем является сохранение локомоторной активности – количество переходов между рукавами осталось на уровне контроля, что указывает на специфический анксиолитический эффект без признаков седации или гиперактивности. Снижение количества выглядываний из закрытых рукавов на фоне роста времени пребывания в открытых зонах свидетельствует о качественном переходе от тревожного типа поведения к поисково-исследовательскому.

В настоящей работе формирование пищевой аддикции и компульсивного переедания моделировали с помощью прерывистого ограниченного доступа к высококалорийной диете, что признано валидным подходом для воспроизведения расстройств пищевого поведения у грызунов [16]. Известно, что стрессорные воздействия в раннем или взрослом онтогенезе существенно повышают уязвимость к формированию зависимого поведения, усилению реакции вознаграждения и компульсивному потреблению палатабельной пищи [17]. Оценка поведенческого профиля животного в тесте «закапывание шариков» традиционно используется для анализа стереотипной активности, проявлений обсессивно-компульсивного спектра и эффективности анксиолитической и антикомпульсивной терапии [18].

Обсессивно-компульсивные и тревожные состояния тесно взаимосвязаны, т.к. навязчивое поведение служит механизмом снижения эмоционального дискомфорта и тревоги. Традиционная фармакотерапия данных расстройств (антидепрессанты, бензодиазепино-

вые анксиолитики, нейролептики) нередко сопровождается выраженными побочными эффектами, что делает актуальным поиск новых селективных лекарственных кандидатов [19].

Полученные данные подчёркивают вовлечённость грелиновой системы в механизмы переедания и связанных с ним эмоционально-поведенческих нарушений. Известно, что грелин действует не только в гипоталамусе, регулируя пищевой баланс и аппетит. Он также передает сигналы в другие структуры мозга – в частности, через нейроны паравентрикулярного ядра и структуры расширенной миндалины (включая прилежащее ядро и ядро ложа конечной полоски) [20]. Именно эти отделы мозга отвечают за эмоции, мотивацию, тревожность и компульсивные реакции.

Разработанный в ФГБНУ «ИЭМ» пептид Лизагрел, продемонстрировал выраженную способность купировать проявления компульсивного переедания и сопутствующей тревожности у самок крыс. Двойной эффект Лизагрела обусловлен его специфической структурой, сочетающей свойства блокатора грелинергического стимула аппетита и анксиолитического модулятора. Чувствительность именно самок крыс к проводимой терапии согласуется с данными о высокой восприимчивости женского организма к эмоционально-обусловленным расстройствам пищевого поведения и гормонально-ассоциированным колебаниям грелинового сигнала.

Важным преимуществом Лизагрела является интраназальный способ применения. Данный путь введения обеспечивает быстрое поступление пептидного соединения непосредственно в структуры центральной нервной системы в обход гематоэнцефалического барьера и системного метаболизма, что позволяет минимизировать эффективную дозу и существенно снизить риск системной токсичности.

Заключение. Лизагрел оказывает комплексное воздействие на патогенез расстройств пищевого поведения, сочетая анорексигенный эффект с выраженным анксиолитическим действием. Это позволяет рекомендовать заявляемое средство для терапии РПП, протекающих на фоне высокого уровня психоэмоционального стресса и тревожных расстройств, что значительно расширяет диапазон его клинического применения по сравнению с известными антагонистами грелиновых рецепторов.

Список литературы:

1. *Uniacke B., Walsh B. T. Eating Disorders // Ann. Intern. Med. 2022. Vol. 175, N 8. P. ITC113–ITC128. DOI: 10.7326/AITC202208160.*
2. *Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем: МКБ-10: в 3 т. / Всемирная организация здравоохранения. М.: Медицина, 1995. Т. 1, ч. 1. 317 с.*
3. *Davis C., Carter J. C. Compulsive overeating as an addiction disorder. A review of theory and evidence // Appetite. 2009. Vol. 53, N 1. P. 1–8. DOI: 10.1016/j.appet.2009.05.018.*
4. *Arija Val V., Santi Cano M. J., Novalbos Ruiz J. P. et al. Characterization, epidemiology and trends of eating disorders // Nutr. Hosp. 2022. Vol. 39, N Spec No2. P. 8–15. DOI: 10.20960/nh.04173.*
5. *Loxton N. J., Tipman R. J. Reward sensitivity and food addiction in women // Appetite. 2017. Vol. 115. P. 28–35. DOI: 10.1016/j.appet.2016.10.022.*
6. *Carter A., Hendrikse J., Lee N. et al. The neurobiology of "food addiction" and its implications for obesity treatment and policy // Annu. Rev. Nutr. 2016. Vol. 36. P. 105–128. DOI: 10.1146/annurev-nutr-071715-050909.*

7. *Heo Y. A., Duggan S. T. Lisdexamfetamine: a review in binge eating disorder // CNS Drugs. 2017. Vol. 31, N 11. P. 1015–1022. DOI: 10.1007/s40263-017-0470-8.*
8. *Shah M. S., Patel Z. K., Bharucha R. et al. Sibutramine-induced nonischemic cardiomyopathy // Cureus. 2022. Vol. 14, N 1. Art. N e21650. DOI: 10.7759/cureus.21650.*
9. *Filippatos T. D., Derdemezis C. S., Gazi I. F. et al. Orlistat-associated adverse effects and drug interactions: a critical review // Drug Saf. 2008. Vol. 31, N 1. P. 53–65. DOI: 10.2165/00002018-200831010-00005.*
10. *FDA Approves New Drug Treatment for Chronic Weight Management, First Since 2014 // U.S. Food and Drug Administration. 2021. URL: https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-new-drug-treatment-chronic-weight-management-first-2014 (date of access: 21.04.2023).*
11. *Gnanapavan S., Kola B., Bustin S. A. et al. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2002. Vol. 87, N 6. P. 2988. DOI: 10.1210/jcem.87.6.8739.*
12. *Ducharme R., Anisman H., Abizaid A. Altered metabolic and neurochemical responses to chronic unpredictable stressors in ghrelin receptor-deficient mice // Eur. J. Neurosci. 2010. Vol. 32, N 4. P. 632–639. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2010.07310.x.*
13. *Corwin R. L., Buda-Levin A. Behavioral models of binge-type eating // Physiol. Behav. 2004. Vol. 82, N 1. P. 123–130. DOI: 10.1016/j.physbeh.2004.04.036.*
14. *Naumenko V. S., Bazovkina D. V., Semenova A. A. et al. Effect of glial cell line-derived neurotrophic factor on behavior and key members of the brain serotonin system in mouse strains genetically predisposed to behavioral disorders // J. Neurosci. Res. 2013. Vol. 91, N 12. P. 1628–1638. DOI: 10.1002/jnr.23286.*
15. *Pellow S., Chopin P., File S. E., Briley M. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat // J. Neurosci. Methods. 1985. Vol. 14, N 3. P. 149–167. DOI: 10.1016/0165-0270(85)90031-7.*
16. *Boggiano M. M., Artiga A. I., Pritchett C. E. et al. High intake of palatable food predicts binge-eating independent of susceptibility to obesity: An animal model of lean vs obese binge-eating and obesity with and without binge-eating // Int. J. Obes. 2007. Vol. 31, N 9. P. 1357–1367. DOI: 10.1038/sj.ijo.0803614.*
17. *Лебедев А. А., Пюрвеев С. С., Надбитова Н. Д. и др. Снижение компульсивного переедания у крыс, вызванного материнской депривацией в раннем онтогенезе, с применением нового антагониста рецепторов грелина агрелакс // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2023. Т. 21, № 3. С. 255–262. DOI: 10.17816/RCF562841.*
18. *Veale D., Roberts A. Obsessive-compulsive disorder // BMJ. 2014. Vol. 348. Art. N g2183. DOI: 10.1136/bmj.g2183.*
19. *Decloedt E. H., Stein D. J. Current trends in drug treatment of obsessive-compulsive disorder // Neuropsychiatr. Dis. Treat. 2010. Vol. 6. P. 233–242. DOI: 10.2147/NDT.S3149.*
20. *Alvarez-Crespo M., Skibicka K. P., Farkas I. et al. The amygdala as a neurobiological target for ghrelin in rats: neuroanatomical, electrophysiological and behavioral evidence // PLoS ONE. 2012. Vol. 7, N 10. Art. N e46321. DOI: 10.1371/journal.pone.0046321.*

ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕБНАЯ ТАКТИКА ПРИ ОСТРОМ СЕПСИСЕ, ОБУСЛОВЛЕННОМ БИЛИАРНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ ЖЕЛЧЕКАМЕННОГО ГЕНЕЗА

Орехова П.А., Дёшина Е.С., Камилавкин В.А.
Донецкий государственный медицинский университет имени М. Горького, Донецк

Аннотация. *Цель исследования: систематизировать данные о ранней диагностике и мультидисциплинарном лечении острого калькулезного билиарного сепсиса для определения стратегий снижения летальности. Материалы и методы: Проведен систематический анализ оригинальных публикаций за 2020–2026 гг. из баз PubMed, eLIBRARY и КиберЛенинка. Результаты: УЗИ выступает первичным методом диагностики, а КТ и МРХПГ – уточняющими при сложном холедохолитиазе. Установлено, что малоинвазивная декомпрессия (ЭПСТ, ЧЧХС), выполненная в первые 6 часов от поступления, в сочетании с антибиотикотерапией (цефалоспорины III–IV поколений, карбапенемы) и экстракорпоральной детоксикацией снижает летальность с 30–40% до <15%. Холецистэктомию целесообразно откладывать до купирования эндотоксикоза. Заключение: Успех лечения определяется соблюдением 6-часового окна для восстановления пассажа желчи и синергией хирургических и реанимационных протоколов.*

Ключевые слова: *желчнокаменная болезнь, острый билиарный сепсис, холецистохоледохолитиаз, лечение, диагностика сепсиса, септический шок.*

Введение. Желчнокаменная болезнь (ЖКБ) остается одним из самых распространенных хирургических заболеваний, а частота ее осложненных форм продолжает расти, особенно среди пациентов пожилого и старческого возраста [1,9]. Одним из наиболее тяжелых осложнений ЖКБ является острый билиарный сепсис, летальность при котором, по данным современной литературы, достигает 15–40%, а при развитии септического шока превышает 50%. Высокая частота неблагоприятных исходов обусловлена высокой скоростью развития осложнений и трудностями своевременной диагностики [2,10].

В основе билиарного сепсиса лежит системный воспалительный ответ организма на инфекцию в желчевыводящих путях. Главной причиной этого состояния в 80–90% случаев становится обтурационный холедохолитиаз – перекрытие общего желчного протока конкрементом. Закупорка протока нарушает нормальный отток желчи, что приводит к быстрому развитию гнойного холангита [2,4]. Из-за высокого давления в желчных путях бактерии и их токсины проникают в кровь, вызывая генерализованную инфламматорную реакцию. При отсутствии экстренного хирургического вмешательства по восстановлению оттока жёлчи процесс стремительно прогрессирует с формированием полиорганной недостаточности [5].

Цель. На основе систематического анализа современных клинических рекомендаций и научных публикаций систематизировать принципы ранней диагностики и мультидисциплинарной лечебной тактики при остром билиарном сепсисе, обусловленном холедохолитиазом.

Материалы и методы. Проведен систематический поиск литературы в базах данных КиберЛенинка (CyberLeninka), PubMed и eLIBRARY за период с 2020 года по 2026 год. Использованы следующие ключевые слова и их комбинации на русском и английском языках: «Острый билиарный сепсис», «холецистохоледохолитиаз», «жёлчекаменная болезнь», «диагностика сепсиса», «хирургическое лечение», «acute biliary sepsis», «ch olecystocholedocholithiasis», «cholelithiasis». В исследование вошли статьи с оригинальными данными по диагностике и лечебной тактике при остром сепсисе, обусловленном билиарной патологией желчнокаменного генеза; исключены обзоры без оригинальных данных, клинические случаи и статьи на языках, отличных от русского и английского; повторные публикации.

Результаты и обсуждение. Инструментальная диагностика билиарного сепсиса направлена на верификацию причины, уровня и характера обструкции желчевыводящих путей, а также оценку степени билиарной гипертензии. Методом первой линии выступает ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости. Оно позволяет высокооперативно оценить диаметр внутри- и внепеченочных протоков, выявить конкременты, признаки холецистита и очаговые поражения печени (включая микроабсцессы) [1,2]. Обнаружение мелких эхогенных включений в протоках (симптом «снежной бури») свидетельствует о пневмобилии и вероятной анаэробной инфекции. При недостаточной информативности УЗИ применяют компьютерную томографию (КТ) с контрастированием и магнитно-резонансную холангиопанкреатографию (МРХПГ). МРХПГ служит наиболее точным неинвазивным методом визуализации желчных путей при подозрении на рентгенонеконтрастные конкременты, стриктуры или опухоли. КТ позволяет комплексно оценить состояние паренхимы печени, поджелудочной железы и окружающих тканей для исключения альтернативных источников внутрибрюшной инфекции [2,7]. Ключевое значение имеют эндоскопические и интервенционные методы (ЭРХПГ, ЧЧХГ), сочетающие диагностический поиск с экстренной лечебной декомпрессией (папиллосфинктеротомия, литоэкстракция, стентирование или дренирование). Во время данных вмешательств в обязательном порядке выполняется забор жёлчи для бактериологического исследования и оценки чувствительности флоры к антибиотикам.

Дифференциальная диагностика проводится с неосложненной механической желтухой, протекающей без синдрома системного воспалительного ответа и органной дисфункции, а также с другими формами тяжелой инфекции – перитонеальным, панкреатогенным и урогенным сепсисом. Верификация диагноза основывается на сопоставлении данных визуализации с лабораторными маркерами воспаления (С-реактивный белок, прокальцитонин) и признаками органной несостоятельности (артериальная гипотензия, олигурия, дыхательные и коагулопатические нарушения) [1,2,7].

При билиарном сепсисе, развившемся на фоне обтурации желчевыводящих путей, определяющую роль играет активная хирургическая тактика в сочетании с интенсивной соматотропной терапией [5]. Устранение билиарной гипертензии должно осуществляться в течение первых 6 часов с момента госпитализации, а при тяжелом септическом шоке – непосредственно после краткосрочной стабилизации витальных функций. Приоритетным направлением современной хирургии выступает применение малоинвазивных технологий. Среди них выделяют эндоскопические вмешательства, такие как папиллосфинктеротомия с литоэкстракцией, назобилиарное дренирование и транспа-

пиллярное стентирование общего жёлчного протока, а также чрескожную чреспеченочную холангиостомию под лучевым контролем [7,8].

Лапароскопические и открытые оперативные вмешательства, включая холедохотомию, наружное дренирование холедоха по Холстедту или Вишневскому, применяются при неэффективности малоинвазивных доступов либо при развитии желчного перитонита, требующего полноценной санации и дренирования брюшной полости. При этом выполнение радикального этапа – холецистэктомии – целесообразно отложить на 5–7 суток до купирования острого эндотоксикоза [7,9]. Хирургическое декомпрессионное лечение в обязательном порядке сочетается с массивной медикаментозной терапией в условиях отделения реанимации. Основой противомикробного лечения является ранняя эмпирическая антибиотикотерапия препаратами широкого спектра действия, обладающими высокой проникающей способностью в жёлчь, в первую очередь цефалоспоринами III–IV поколений и карбапенемами, с последующей коррекцией схемы по результатам бактериологического посева. Для коррекции гиповолемии, восстановления микроциркуляции и снижения уровня эндотоксикоза проводится инфузионная терапия сбалансированными кристаллоидными и коллоидными растворами [2,7,10]. В комплексную программу лечения также обоснованно включают антикоагулянты, гепатопротекторы, внутривенные иммуноглобулины и озонотерапию. При нарастании полиорганной несостоятельности комплекс интенсивных мероприятий расширяют за счет проведения оксигенотерапии или искусственной вентиляции легких, заместительной почечной терапии и методов экстракорпоральной гемокоррекции, включая плазмаферез и гемосорбцию.

Заключение. Острый билиарный сепсис калькулезной этиологии требует применения чётко регламентированного лечебно-диагностического алгоритма. Ранняя верификация обструкции желчевыводящих путей с использованием УЗИ, КТ и МРХПГ в сочетании с оценкой лабораторных маркеров воспаления позволяет своевременно определить хирургическую тактику. Клиническая эффективность лечения достигается за счет реализации концепции двухэтапного вмешательства: выполнения малоинвазивной декомпрессии желчных протоков (эндоскопической или чрескожной) в первые 6 часов от момента поступления с последующей отсроченной холецистэктомией после купирования острого периода.

Хирургический этап в обязательном порядке сопровождается агрессивной консервативной терапией, включающей стартовую антибиотикотерапию цефалоспоринами III–IV поколений или карбапенемами, объемозамещающую инфузию и методы экстракорпоральной детоксикации при развитии полиорганной несостоятельности. Внедрение данного мультидисциплинарного подхода обеспечило статистически значимое снижение летальности и частоты осложнений при этой категории критических состояний.

Список литературы:

1. *Ахмедов Фарход Хакимович, Хамдамов Илхом Бахтиёрович, Хамдамов Алишер Бахтиёрович СОВРЕМЕННОЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ О ЖЕЛЧНОКАМЕННОЙ БОЛЕЗНИ, ДИАГНОСТИКИ И МЕТОДАХ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ // Биология и интегративная медицина. 2022. №1 (54). URL: https://cyberleninka.ru/article/n/sovremennoe-predstavlenie-o-zhelchnokamennoy-bolezni-diagnostiki-i-metodah-hirurgicheskogo-lecheniya (дата обращения: 12.08.2026).*

2. *Диагностика и лечение острого билиарного сепсиса жёлчнокаменного генеза / А. Д. Шаталов, В. В. Хацко, А. Е. Кузьменко [и др.] // Университетская клиника. – 2025. – № 4(57). – С. 58-62. – EDN SNLILI.*
3. *Корольков, А. Ю. Желчекаменная болезнь и ее осложнения. Острый холецистит, холангит и билиарный сепсис : Учебное пособие / А. Ю. Корольков, Д. И. Василевский, Д. Н. Попов. – Санкт-Петербург : ООО «Скифия-принт», 2021. – 56 с. – ISBN 978-5-98620-564-9. – EDN SBTIZM.*
4. *Поканевич, В. Д. Сравнительный анализ шкал для оптимальной диагностики билиарного сепсиса у больных с острым холангитом / В. Д. Поканевич, С. Ю. Полушин // Известия Российской военно-медицинской академии. – 2020. – Т. 39, № S1-1. – С. 226-230. – EDN DGHYCH.*
5. *Попов, Д. Н. Гибридные хирургические вмешательства в лечении острого холангита и билиарного сепсиса на фоне холецистохоледохолитиаза : специальность 14.01.17 «Хирургия» : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Попов Дмитрий Николаевич, 2021. – 126 с. – EDN HGKFEX.*
6. *Профилактика и лечение холангиогенного сепсиса у больных острым билиарным панкреатитом, осложненным гнойным холангитом / Б. М. Белик, З. А. Абдурагимов, А. В. Родаков [и др.] // Нестираемые скрижали: сепсис et cetera: Сборник материалов конференции Ассоциации общих хирургов, приуроченной к юбилею кафедры общей хирургии ЯГМУ, Ярославль, 18–19 мая 2020 года. – Ярославль: Цифровая типография, 2020. – С. 49-52. – EDN LTUTQN.*
7. *Современные подходы к диагностике и лечению острого холангита и билиарного сепсиса / И. А. Соловьев, А. Е. Демко, Д. А. Суров, А. В. Осипов // Нестираемые скрижали: сепсис et cetera : Сборник материалов конференции Ассоциации общих хирургов, приуроченной к юбилею кафедры общей хирургии ЯГМУ, Ярославль, 18–19 мая 2020 года. – Ярославль: Цифровая типография, 2020. – С. 172-173. – EDN NQLECW.*
8. *Туляганов Даврон Бахтиярович, Атаджанов Шухрат Комилович, Алиев Бахтиер Абдувалиевич, Магдиев Шухрат Алишерович Эндоскопические транспапиллярные вмешательства при осложнениях желчнокаменной болезни // Вестн. хир.. 2024. №3. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/endoskopicheskie-transpapillyarnye-vmeshatelstva-pri-oslozhneniyah-zhelchnokamennoy-bolezni (дата обращения: 12.08.2026).*
9. *Littlefield A, Lenahan C. Cholelithiasis: Presentation and Management. J Midwifery Womens Health. 2019 May;64(3):289-297. doi: 10.1111/jmwh.12959. Epub 2019 Mar 25. PMID: 30908805.*
10. *Zdanowicz K, Daniluk J, Lebensztejn DM, Daniluk U. The Etiology of Cholelithiasis in Children and Adolescents-A Literature Review. Int J Mol Sci. 2022 Nov 2;23(21):13376. doi: 10.3390/ijms232113376. PMID: 36362164; PMCID: PMC9657413.*

* * *

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ ТЕРАПИИ ПИЩЕВЫХ РАССТРОЙСТВ: МУЛЬТИМОДАЛЬНЫЕ И МЕЖДИСЦИПЛИНАРНЫЕ РЕШЕНИЯ

Орехова П.А., Власова М.А.

Донецкий государственный медицинский университет имени М. Горького, Донецк

Аннотация. *Цель исследования: провести анализ современных подходов к диагностике и терапии расстройств пищевого поведения (РПП) для выявления эффективных мультимодальных стратегий, повышающих качество лечения и достижение длительной ремиссии. Материалы и методы: систематический обзор публикаций 2020–2026 гг. (КиберЛенинка, PubMed, eLIBRARY) по психотерапевтическим, медикаментозным и нутритивным методам коррекции РПП в разных возрастных группах. Результаты исследования: РПП коморбидны с аффективной патологией и требуют междисциплинарной помощи. Комплексная диагностика (точность до 95%) в сочетании с КПТ, семейной психотерапией и нутритивной поддержкой снижает летальность и ускоряет реабилитацию. При тяжелом течении показана стационарная соматическая стабилизация. Заключение: РПП – значимая медико-социальная проблема. Эффективность терапии определяется персонализированным вмешательством, этапностью помощи и интеграцией психологических, медицинских и диетологических протоколов. Необходимы дальнейшие исследования для стандартизации мультидисциплинарных программ и профилактики рецидивов.*

Ключевые слова: *расстройство пищевого поведения, анорексия, булимия, компульсивное переедание, психотерапия, когнитивно-поведенческая терапия, семейная психотерапия.*

Введение. Расстройства пищевого поведения (РПП) представляют собой комплекс психических заболеваний, для которых характерны нарушения в сфере приема пищи, проявляющиеся как в виде чрезмерного ограничения количества съедаемых продуктов, так и в виде его патологического увеличения. Основные и наиболее исследованные формы данного класса расстройств включают нервную анорексию, нервную булимии и компульсивное переедание, каждое из которых оказывает значительное негативное влияние на физическое состояние и психоэмоциональное здоровье пациентов [1,2]. В современном клиническом контексте РПП рассматриваются как серьезные психические заболевания, проявляющиеся экстремальными нарушениями пищевого поведения, для которых характерно нарушение нормальных пищевых функций и искажённое восприятие собственного тела. Специалисты в области здравоохранения подчеркивают, что эти расстройства требуют комплексного подхода к диагностике и терапии, поскольку их последствия могут иметь длительный и тяжелый характер [3]. В связи с этим особое значение приобретают исследования, направленные на выявление эффективных методов междисциплинарного и мультимодального воздействия, сочетающих психотерапевтические, медикаментозные и медицинские меры, что обусловливает необходимость глубокого анализа современного научного и клинического опыта в данной области [4,7].

Цель. Проанализировать современные методы диагностики и терапии пищевых расстройств с акцентом на использование мультимодальных и междисциплинарных подходов, выявить наиболее эффективные стратегии их лечения и определить пути повышения практической реализации современных терапевтических моделей.

Материалы и методы. В рамках исследования выполнен комплексный обзор научных публикаций, найденных в базах данных КиберЛенинка (CyberLeninka), PubMed и eLIBRARY, охватывающий период с 2020 по 2026 год. Использованы следующие ключевые слова и их комбинации на русском и английском языках: «Расстройства пищевого поведения», «нервная анорексия», «нервная булимия», «компульсивное переедание», «мультимодальные подходы», «междисциплинарные решения», «когнитивно-поведенческая терапия», «семейная психотерапия», «eating disorders», «anorexia nervosa», «bulimia nervosa», «compulsive overeating». В исследование включены статьи, содержащие оригинальные данные по диагностике и терапии пищевых расстройств, в то время как обзоры без новых данных, клинические случаи и публикации на языках, отличных от русского и английского, исключены, также исключены дублирующиеся публикации.

Результаты и обсуждение. Современная научная литература подчеркивает необходимость комплексного подхода в терапии расстройств пищевого поведения, включающего коррекцию как психических аспектов, так и вторичных соматических нарушений, сопровождающих данные расстройства [3,4]. Особую важность при тяжелых случаях с отсутствием критики к своему состоянию и низкой мотивацией к лечению занимает неотложная госпитализация, что способствует стабилизации общего состояния пациента и созданию условий для дальнейшего психосоматического восстановления. В рамках стационарного лечения и последующего наблюдения в условиях дневных стационаров подчеркивается значимость комплексных терапевтических программ для восстановления физиологического баланса и психологического здоровья [5,9].

На сегодняшний день основными методами лечения являются психотерапия, фармакотерапия и диетотерапия, которые, как правило, реализуются в сочетании для достижения оптимальных результатов [4]. Среди психотерапевтических методов особое значение придается когнитивно-поведенческой терапии (КПТ) и семейной психотерапии, последняя признана наиболее эффективной при лечении пищевых расстройств у детей и подростков. КПТ нацелена на изменение деструктивных мыслительных паттернов, регулирование эмоций и развитие здоровых привычек питания [6,7]. Семейная терапия работает с семейной системой, улучшая коммуникацию и снижая влияние негативных факторов. Их комплексное применение повышает эффективность лечения пищевых расстройств и способствует устойчивым результатам [8]. В контексте комплексных решений современных стратегий терапии необходимо подчеркнуть роль междисциплинарных методов, объединяющих психологические, медицинские и диетологические аспекты, что особенно актуально для формирования индивидуализированных и эффективных программ лечения у различных возрастных групп [10].

В ходе исследования была доказана статистически значимая превосходность междисциплинарного подхода перед изолированными монотерапевтическими стратегиями. Междисциплинарный консилиум в составе психиатра (психофармакотерапия и коррекция психопатологической симптоматики), психотерапевта (модификация дезадаптивных когнитивных схем), диетолога (нутритивная коррекция и расчет энергозатрат) и врача-соматолога (мониторинг и купирование соматических осложнений) обеспечивает

всесторонний охват феноменологии заболевания. Комплексный вектор терапевтического воздействия позволяет параллельно стабилизировать гемодинамические и биохимические показатели, повысить уровень мотивации к лечению и минимизировать риск возникновения повторных эпизодов заболевания [4,5,9].

Заключение. Таким образом, паттерны пищевого поведения формируются на стыке биологических, социальных, этнических и идеологических факторов. В структуре расстройств пищевого поведения ведущее место занимают нервная анорексия, нервная булимия и компульсивное переедание. Эффективность лечения и прогноз заболевания во многом зависят от своевременной диагностики, индивидуального подхода и соблюдения этапности оказания медицинской помощи, включая стационарное лечение при тяжелом течении.

Современная терапия РПП основывается на мультидисциплинарном подходе и включает психотерапию, психофармакотерапию, нутритивную поддержку и реабилитационные мероприятия. Дальнейшее развитие исследований в данной области позволит совершенствовать методы диагностики и лечения, снижать риск рецидивов и повышать вероятность достижения длительной ремиссии и улучшения качества жизни пациентов.

Список литературы:

1. *Васильев, В. В. Современные подходы к терапии расстройств пищевого поведения / В. В. Васильев, П. В. Исаева, Г. Ф. Низамова // Здоровье, демография, экология финно-угорских народов. – 2021. – № 3. – С. 56-63. – EDN CXIKFG.*
2. *Гончарова, Н. Е. Нервная анорексия и нервная булимия: актуальность темы, определение связи между нервной анорексией и нервной булимией / Н. Е. Гончарова, И. М. Сквира // Интернаука. – 2022. – № 46-3(269). – С. 21-23. – DOI 10 .32743/26870142.2022.46.269.349485. – EDN RLVDWS.*
3. *Демчук, Е. О. Современные подходы к терапии расстройств пищевого поведения / Е. О. Демчук, Г. М. Стефанов, М. С. Цыба // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины : Сборник статей 83-й Международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов, Волгоград, 23–25 апреля 2025 года. – Волгоград: Волгоградский государственный медицинский университет, 2025. – С. 702-703. – EDN VVUHEH.*
4. *Л. С. Круглова, Е. Р. Аравийская, Ф. Х. Дзгоева, А. Н. Львов, А. Р. Мисбахова, Н. П. Михайлова, М. Р. Оразов, А. В. Самцов, Е. В. Соколовский, А. А. Шарова Вопросы междисциплинарного взаимодействия и ведения пациентов на фоне медикаментозной поддержки снижения веса // Эффективная фармакотерапия. 2026. №1. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/voprosy-mezhdistsiplinarnogo-vzaimodeystviya-i-vedeniya-patsientov-na-fone-medikamentoznoy-podderzhki-snizheniya-vesa-1 (дата обращения: 10.08.2026).*
5. *Медведев Владимир Эрнстович, Фролова В. И., Гушанская Е. В., Фофанова Ю. С., Мартынов С. Е., Зуйкова Н. Л., Бурно А. М., Некрасова С. В., Салынцев И. В. ДЕПРЕССИИ С РАССТРОЙСТВАМИ ПИЩЕВОГО ПОВЕДЕНИЯ: КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ И ТЕРАПИЯ // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2020. №4. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/depressii-s-rasstroystvami-pischevogo-povedeniya-klinicheskie-proyavleniya-i-terapiya (дата обращения: 10.08.2026).*

6. *Струцкая, Л. М. Компульсивное переедание как основной тип расстройства пищевого поведения и современные методы терапии / Л. М. Струцкая // Психея и Пневма. Современные практики в психологической помощи : XIII Сретенская научно-практическая конференция : сборник докладов, Санкт-Петербург, 13–14 февраля 2020 года. – Санкт-Петербург: Русская христианская гуманитарная академия, 2020. – С. 21-27. – EDN IQEKXK.*
7. *Федотова, С. А. Расстройство пищевого поведения (РПП) среди подростков: методы борьбы с РПП / С. А. Федотова, Л. Б. Тимофеева // PROдвижение, Княгинино, 09 февраля 2022 года. – Княгинино: Нижегородский государственный инженерно-экономический институт, 2022. – С. 33. – EDN CGWEBF.*
8. *Юраго, Р. Г. Связь семейного воспитания с риском расстройств пищевого поведения у молодежи / Р. Г. Юраго // Вестник науки. – 2025. – Т. 2, № 6(87). – С. 1553-1561. – EDN ZEACUK.*
9. *Treasure J, Duarte TA, Schmidt U. Eating disorders. Lancet. 2020 Mar 14;395(10227):899-911. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30059-3. PMID: 32171414.*
10. *Juli R, Juli MR, Juli G, Juli L. Eating Disorders and Psychiatric Comorbidity. Psychiatr Danub. 2023 Oct;35(Suppl 2):217-220. PMID: 37800230.*

✷ ✷ ✷

СИНТЕТИЧЕСКИЕ АНАЛОГИ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ И ИХ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

Орлов Д.С., Жаркова М.С., Шамова О.В., Артамонов А.Ю.
Институт экспериментальной медицины,
Санкт-Петербург

Аннотация. *В статье рассмотрены научные направления в области изучения эффекторных и регуляторных пептидов, продуцируемых клетками системы врожденного иммунитета, а также пути создания их синтетических аналогов. Приведена информация о подходах к разработке структурных модификаций исследуемых пептидов. Пептиды врожденного иммунитета выгодно отличаются от применяемых в клинике антибиотиков тем, что оказывают антимикробное действие на резистентные штаммы бактерий, обладают противоопухолевой и иммуномодулирующей активностью. Целью создания синтетических аналогов и структурных модификаций природных молекул является получение пептидов с оптимальными для медицины свойствами.*

Ключевые слова: *синтетические антимикробные пептиды, резистентность.*

Введение. В современных условиях население активно перемещается между странами и континентами, происходит массовая миграция населения из различных природных зон, часто ведутся военные конфликты между географически, экологически и генетически отделенными странами. Военные конфликты приводят к таким последствиям как распространение новых возбудителей (например, появление Acinetobacter в Европе). Условия жизни в промышленно развитых странах, загрязнения токсичными веществами приводят к нарушениям функционирования защитных систем организма, что облегчает распространение инфекционных заболеваний. Перечисленное вызывает рост частоты болезней, прямо или косвенно связанных с инфекцией, а также онкологических. Это приводит к широкому и часто нерациональному использованию антибиотиков, способствует быстрому появлению резистентных штаммов и неэффективности антибиотикотерапии. Поэтому актуальной задачей современной медицины является разработка принципиально новых антибиотиков.

Цель. Поиск новых путей преодоления резистентности микроорганизмов к антибиотикам путем создания альтернативных препаратов на основе синтетических аналогов природных антимикробных пептидов.

Явление резистентности связано со способностью микроорганизмов или опухолевых клеток противостоять ранее эффективному воздействию лекарств или других видов терапевтических воздействий. Резистентность - сложный биологический процесс, связанный с адаптацией и эволюцией. Бактерии, грибы, простейшие могут развивать устойчивость к антимикробным препаратам. Распространена природная, обусловленная строением мембран и внутриклеточной организацией или биохимическим составом устойчивость – отсутствием мишени для препарата. Однако наиболее значимой проблемой для медицины является приобретенная резистентность, возникающая у отдельных штаммов микроорганизмов в результате мутаций или горизонтального переноса генов. К механизмам резистентности бактерий можно отнести следующее. Структурные изменения в молекулах-мишенях (ферментах, рибосомах) из-за мутаций снижают или

полностью блокируют связывание с препаратом. Мишень препарата может быть модифицирована. Микроорганизмы могут вырабатывать ферменты, например, β-лактамазы, инактивирующие препарат, разрушающие или химически модифицирующие антибиотик, делая его неактивным. Специальные транспортные системы могут выводить антибиотик из клетки до развития антимикробного действия. Проницаемость бактериальных мембран может быть изменена модификацией пориновых каналов. Бактерии могут изменить метаболический путь, на который направлено действие антибиотика. Важно, что перечисленные пути требуют от микроорганизмов серии циклов делений клеток. Нерациональное применение антибиотиков дает такую возможность. В отличие от воздействия пептидных антибиотиков действующих быстро, мембранолитически.

Не меньшую проблему в медицине представляет резистентность опухолевых клеток. Механизмы явления сходны. Опухолевые клетки уменьшают количество транспортных для препарата белков. Возможна гиперэкспрессия белков, выводящих из клеток препарат (Pgp170, MRP активно выкачивают цитостатики из клеток). Возможно снижение активации пролекарств или усиление их инактивации. Мутации в генах, кодирующих топоизомеразы, могут нарушать взаимодействие с противоопухолевыми препаратами. Опухолевые клетки активируют системы репарации, что позволяет им выживать даже при повреждении ДНК, вызванном терапией. Опухолевые клетки могут приобрести устойчивость к программируемой клеточной смерти (мутации в гене, кодирующем белок p53, или гиперэкспрессия белков типа Bcl-2). Низкий pH, изменения внеклеточного матрикса и другие особенности микроокружения опухоли могут снижать эффективность препаратов. Это близко к механизмам образования бактериальных биопленок.

Таким образом, можно назвать общие черты бактериальной и опухолевой лекарственной резистентности. И бактерии и опухолевые клетки накапливают мутации, что даёт материал для естественного отбора. Антибиотики и противоопухолевые препараты повышают частоту мутаций, способствуя появлению резистентных клеток. Основой резистентности может служить активация транспортных систем, выводящих препарат из клетки. И опухолевые и микробные клетки могут формировать микроокружение, что снижает эффективность лечения. Важно подчеркнуть, что для формирования резистентности требуется время для появления устойчивых как к противомикробным, так и противоопухолевым препаратам. В организме человека и животных первую линию противомикробной, противовирусной и противоопухолевой защиты обеспечивает система врожденного иммунитета.

Система врожденного иммунитета участвует в осуществлении многих защитных функций организма в ходе развития различных патологических процессов, в частности, обеспечивает оперативный ответ при инфекции. Изучение молекулярно-клеточных механизмов функционирования данной системы является перспективным для решения задач биологии и медицины. Одними из главных эффекторных клеток системы врождённого иммунитета являются нейтрофильные гранулоциты, наряду с клетками барьерных эпителиев. Антимикробные пептиды, ответственные за инактивацию патогенных микроорганизмов нейтрофилами, сосредоточены, главным образом, в гранулярном аппарате этих клеток. Данные соединения действуют как внутри фагосом, так и при секреции их во внеклеточное пространство в ходе развития инфекционного процесса. Известно, что антимикробные эффекты отдельных компонентов гранулярного аппарата

нейтрофилов многократно усиливаются при совместном действии этих соединений на микроорганизмы, как это происходит in vivo. Хотя механизм этого явления до конца не ясен, общая концепция базируется на том, что вещества, одновременно оказывающие свой эффект на микробную клетку, имеют разные мишени, затрудняя эффективную защиту микроорганизма от подобного многофакторного воздействия.

АМП, как правило, обладают широким спектром противомикробного действия. Многие пептиды проявляют высокую активность против устойчивых к традиционным антибиотикам, в том числе мультирезистентных, штаммов микроорганизмов, борьба с которыми является актуальной задачей современной медицины. Кроме того, эти соединения могут оказывать плейотропный эффект: для ряда из них показано, помимо антимикробного, ранозаживляющее и иммуномодулирующее действие. Поэтому АМП рассматриваются как прототипы для создания новых эффективных противоинфекционных лекарственных препаратов. Таким образом, актуальность изучения антимикробных пептидов в первую очередь связана с перманентно присутствующей в медицине проблемой постоянно растущей резистентности патогенных микроорганизмов к применяемым в клинике терапевтических препаратов, а также с их иммуномодулирующими эффектами. Выявление принципиально новых структурных классов антибиотических веществ является нетривиальной задачей. В высоких концентрациях, превышающих антимикробные, ряд природных белков и пептидов нейтрофилов токсичен для клеток макроорганизма, что может представлять проблему при их внедрении в медицину. Изучение биологической активности антимикробных пептидов животного происхождения, полученных из природных источников осложнено тем, что получение их в достаточном количестве исключительно трудоемко. Трудности могут быть преодолены путем использования синтетических аналогов и установления связи структуры пептидов и их биологической активности для создания оптимизированных для практического применения соединений.

Материалы и методы. Для получения синтетических пептидов методом твердофазного синтеза использовался пептидный синтезатор Symphony X производства Gyros Protein Technologies (США) и стандартный набор биохимических методов: высокоэффективная жидкостная хроматография, масс-спектрометрия и др. Биологическая активность тестировалась стандартными методами работы с культурами бактериальных и эукариотических клеток.

Результаты и обсуждение. Нами были исследованы различные по структуре пептиды. В задачи работы входило получение АМП, имеющих высокую антимикробную активность, не токсичных для клеток человека и стабильных в биологических жидкостях. В частности, исследован пептид ареницин (АМП целомоцитов многощетинкового червя *Arenicola marina*), имеющий структуру бетта–шпильки, обладающий широким спектром антимикробной активности, включая резистентных микроорганизмов, и гемолитической активностью в отношении эритроцитов человека [1]. Используя твердофазный пептидный синтез, получен ряд его синтетических структурных модификаций. На основании полученных данных можно заключить, что разветвленный симметричный аналог ареницина-1 и линейный аналог ареницина-1 обладают оптимальным сочетанием биологических свойств по сравнению с исходным природным пептидом – относительно высокой антимикробной активностью против грамотрицательных и грамположительных бактерий, включая антибиотикоустойчивые штаммы, и сниженной цитотоксической

активностью в отношении клеток человека. Данные указывают на возможность существования сниженной порообразующей активности данных модификаций. Установлена структурная модификация природного бетта-шпиличного пептида с наиболее перспективными для практического применения свойствами - линейный ареницин на основании которой будут разрабатываться новые модификации ареницина - 1 с оптимальными характеристиками для медицины.

Другой исследованный пептид - бактенецин ChBac3.4 из лейкоцитов домашней козы также был ранее выделен и охарактеризован [2]. Данный пептид относится к подгруппе линейных АМП с повышенным содержанием аминокислоты пролина. Несмотря на явную принадлежность к данному классу, ChBac3.4 демонстрирует ряд нетипичных особенностей: помимо более широкого спектра антимикробной активности (в том числе и против грамположительных бактерий) и мембранолитическиех эффектов на бактериальные мембраны он показал цитоцидную активность против нескольких культивируемых линий опухолевых клеток, в частности устойчивой к доксорубицину линии клеток - K562 (эритромиелоидная лейкемия человека). Наиболее избирательное действие в отношении опухолевых клеток (в сравнении с нормальными) оказывает модифицированный вариант ChBac3.4-1-COOH, сочетающий удвоение участка 12-18 с отсутствием амидирования (индекс селективности 2,7 повышен в сравнении с индексом природного пептида 1,7). Обнаружено, что, отсутствие С-концевого амидирования и делеция гистидина в положении 14 снижают цитотоксическую активность ChBac3.4, тогда как удвоение области 12-18 наоборот усиливает токсический эффект пептида в отношении эукариотических клеток. Незначительное различие по суммарному заряду и гидрофобности между этими пептидами позволяет предположить, что наблюдаемый эффект может быть опосредован специфичными белок-белковыми взаимодействиями.

Пептиды врожденного иммунитета и их структурные модификации выгодно отличаются от применяемых в клинике антибиотиков тем, что оказывают антимикробное действие на резистентные штаммы бактерий, обладают противоопухолевой активностью. Целью создания синтетических аналогов является получение пептидов с оптимальными для медицины свойствами.

Заключение. Получение синтетических аналогов пептидов системы врожденного иммунитета и их структурных модификаций является перспективным направлением в поиске новых препаратов для преодоления резистентности микроорганизмов и малигнезированных клеток к лекарственным препаратам.

Список литературы:

1. *Ovchinnikova T.V., Aleshina G.M., Balandin S.V. et al. Purification and primary structure of two isoforms of arenicin, a novel antimicrobial peptide from marine polychaeta Arenicola marina // FEBS Lett. 2004. Vol. 577. P. 209–214.*
2. *Shamova O., Orlov D., Stegemann C. et al. ChBac3.4: A novel proline-rich antimicrobial peptide from goat leukocytes // Int. J. Pept. Res. Therap. 2009. V. 15, №1. P. 31–42.*

* * *

ВЛИЯНИЕ БИСФЕНОЛА А НА ПОВЕДЕНИЕ И ЭПИГЕНОМНЫЙ СТАТУС ЛЕЙКОЦИТОВ У САМОК КРЫС

Паткин Е.Л., Сучкова И.О., Апраксина Н.К., Цикунов С.Г., Софронов Г.А.

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Аннотация. *Бисфенола А (БФА) относится к эндокринно-разрушающими экотоксикантам. Одним из молекулярных путей действия этого ксеноэстрогена на организм является вовлечение эпигенетических механизмов. Цель работы – установить отдаленные (отсроченные во времени) эффекты БФА на психоэмоциональное состояние и эпигеном. Исследовали половозрелых самок крыс Wistar, которым в течение 5 суток инъецировали БФА в дозах 0,4 и 4 мг/кг. Спустя 30 суток у животных проводили серию поведенческих тестов, определяли эпигеномный статус в лейкоцитах периферической крови. Установлено, что кратковременное воздействие БФА снижает уровень метилирования ДНК по CCGG сайтам и степень компактизации хроматина, а также приводит к подавлению эмоциональности и ухудшению консолидации памяти, которые сохраняются на протяжении 1 месяца, что указывает на потенциальные амнестические и седативные свойства БФА. Использованные в работе количественные показатели эпигеномного статуса лейкоцитов могут служить в качестве потенциальных прогностических биомаркеров развития отклонений в психоэмоциональном состоянии самок, вызванных БФА.*

Ключевые слова: *ксеноэстрогены, поведение крыс, эпигенетические модификации, метилирование ДНК.*

Введение. В последние десятилетия активно исследуются биологические эффекты и молекулярные механизмы воздействия природных и синтетических соединений, разрушающих эндокринную систему. Такие вещества даже в низких дозах могут влиять на метаболизм эндогенных гормонов, что может приводить к различным патологиям [1]. Одним из таких веществ является бисфенол А (БФА).

Широкая распространенность БФА в окружающей среде, его физико-химическое сходство с женским половым гормоном эстрогеном, кумулятивный эффект, а также отсутствие данных о минимально безопасных дозах для здоровья человека определяют необходимость исследований биологических эффектов и молекулярных механизмов воздействия данного экотоксиканта на организм [2, 3]. БФА вызывает эндокринные нарушения, повышает риск возникновения метаболического синдрома, диабета, онкологических заболеваний, патологий репродуктивной, сердечно-сосудистой и нервной систем, а также психических расстройств и нарушений поведения [4-7].

Нейроэндокринный статус и психическое состояние зависят от гормонального статуса, что особенно сильно проявляется у самок в связи с половым циклом [8], поэтому в зависимости от стадии менструального (эстрального) цикла негативные эффекты БФА могут иметь различные характер, однако молекулярные механизмы этого в настоящее время плохо изучены. Предполагается, что они зависят от его эндокринной (в частности

эстрогенной) активности [5, 9], причём одним из возможных молекулярных путей действия БФА на организм является вовлечение эпигенетических механизмов, в частности метилирования ДНК, различных модификаций гистонов, некодирующие РНК, ремоделирование хроматина [10-12].

В связи с вышесказанным, целью данной работы являлась оценка отдаленного (отсроченного во времени) влияния БФА на эпигеномный статус (уровень полногеномного метилирования ДНК и степень компактизации хроматина) лейкоцитов периферической крови самок крыс и поведение (психоэмоциональное состояние) животных.

Материалы и методы. Исследование одобрено ЛЭК ФГБНУ «ИЭМ». Эксперименты проводили на половозрелых самках крыс породы Wistar одинакового возраста и находящихся на одинаковой стадии эстрального цикла. Были сформированы 4 экспериментальные группы животных, которым в течение 5 дней внутрибрюшинно инъецировали по 0,3 мл раствора (0.9% NaCl либо смесь ДМСО с кунжутным маслом, либо БФА одной из исследуемых доз:

• Контроль-ФР (N = 5) – введение физиологического раствора;

• Контроль-ДКМ (N = 5) – введение смеси 0.15% ДМСО на кунжутном масле, которую использовали в качестве растворителя бисфенола А (БФА);

• БФА-0,4 (N = 5) – введение раствора бисфенола А (0,4 мг/кг);

• БФА-4 (N = 5) – введение раствора бисфенола А (4 мг/кг)

10^x сток-раствор БФА (40 мг/мл) готовили на основе 1,5% диметилсульфоксида ДМСО и хранили при -20°С. Животных содержали в условиях вивария при постоянном доступе к воде и стандартному комбинированному корму для грызунов, одинаковом температурном режиме, влажности, освещенности и уровне шума.

О психоневрологическом состоянии животных судили по их поведению в тестах “Приподнятый крестообразный лабиринт” (ПКЛ) (оценка уровня тревожности) и “Условной реакции активного избегания” (УРАИ) (оценка эмоциональной напряженности, консолидация памяти). Тестирование самок проводили в стадии эструс (диэструс) днем в 11-13 часов. Оценку отдаленных поведенческих изменений после 5-кратного введения БФА регистрировали через 1 месяц после воздействия экотоксиканта в тестах “ПКЛ” и ”УРАИ”. По окончании серии поведенческих тестов после пищевой депривации крыс декапитировали и производили забор периферической кровь для эпигеномных исследований.

Геномную ДНК из лейкоцитов периферической крови выделяли неферментативного метода высаливания [13]. Количественную оценку полногеномного метилирования ДНК по CCGG сайтам и относительной степени компактизации хроматина (полногеномный уровень) в лейкоцитах проводили с помощью метил-чувствительной рестрикции (MspI и HpaII) с использованием ImageJ анализа и классического биохимического подхода, основанного на чувствительности ДНК к ДНКазе I, соответственно [14].

Статистическую обработку данных выполняли в программе GraphPad Prism v 8.0.1. Нормальность распределения количественных показателей определяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Сравнение выборок проводили с использованием непараметрических критериев Крускала-Уоллиса, Данна и Манна-Уитни для попарного сравнения. Для статистической обработки результатов физиологических тестов использовали дисперсионный анализ ANOVA для повторяющихся измерений с последующими апостериорными сравнениями t-критерием Стьюдента для независимых выборок с поправкой на множественные сравнения Бонферрони. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Во всех исследованных группах животных через месяц после воздействия БФА не обнаружили статистически значимых различий в уровне тревожности по суммарной длительности пребывания в открытом и закрытом рукавах, а также в центре площадки, при этом наблюдали угасание рефлекса активного избегания. Обе исследованные дозы БФА приводили к снижению эмоциональной напряженности по количеству межимпульсных реакций. При этом воздействие БФА в дозе 4 мг/кг приводила к снижению количества правильных побежек при предъявлении аверсивного стимула, тогда как при дозе 0,4 мг/кг БФА этого не наблюдали. В тоже время суммарный латентный период реакции избавления при повторном электроболевом воздействии возрастал как при дозе 0,4 мг/кг БФА так и при дозе 4 мг/кг БФА.

Предполагается, что именно с седативным эффектом БФА связан тот факт, что у исследованных крыс не было выявлено изменение уровня тревожности. Хотя, например, у взрослых самок мышей БФА, наоборот, приводил к повышенной тревожности [7]. Более вероятно, эти различия связаны с тем, что мыши подверглись воздействию БФА в пре- и неонатальный период, когда еще продолжается формирование нейрональных связей и устанавливается эпигеномный статус/паттерн нейронов, а в нашем исследовании влияние БФА было уже на взрослый головной мозг. Тем самым, полученные результаты говорят о различных (даже противоположных) эффектах БФА на организм (в данном случае головной мозг) в зависимости от возраста особи или вида животного, подвергшейся воздействию этого токсиканта. Необходимо подчеркнуть, что ухудшение консолидации памяти, подавление эмоциональности могло быть связано с нарушениями эпигенетической регуляции генов, вызванными воздействием БФА.

Проведенный нами молекулярно-генетический анализ не выявил статистически значимых различий в эпигеномном статусе лейкоцитов между группами «Контроль-ФР» и «Контроль-ДКМ» через 30 суток после воздействия. В тоже время по сравнению с контрольными группами обе исследованные дозы БФА привели к снижению уровня полногеномного метилирования ДНК по CCGG сайтам и степени компактизации хроматина ($p = 0{,}001$), что косвенно указывает на возможную активацию экспрессии ряда генов, отвечающих за психоэмоциональное состояние.

Заключение. Проведенные исследования показали, что кратковременное (в течение 5 суток) воздействие БФА на половозрелых самок крыс приводит к психоэмоциональным изменениям, которые сохраняются на протяжении как минимум одного месяца. В зависимости от дозы БФА отдаленные последствия воздействия этого ксеноэстрогена у самок крыс могут выражаться в подавлении эмоциональности, ухудшении консолидации памяти по показателю суммарного латентного периода реакций избавления и количеству верных ответов на раздражитель, что указывает на потенциальные амнестические и седативные свойства БФА. При этом воздействие БФА вызывает изменения эпигеномного статуса лейкоцитов, которое сохраняется на протяжении как минимум одного месяца, причём эпигеномный эффект БФА в большей степени затрагивает структуру хроматина, чем метилирование ДНК..

Выводы. Снижение количественных показателей эпигеномного статуса в лейкоцитах периферической крови (уровня полногеномного метилирования ДНК по CCGG сайтам и степени компактизации хроматина) может быть использовано в качестве потенциальных биомаркеров негативного воздействия БФА и/или прогностических биомаркеров отложенных во времени психических/психосоматических отклонений.

Работа выполнена в рамках Государственного задания № FGWG-2025-0019.

Список литературы:

1. *Yoon K., Kwack S.J., Kim H.S., Lee B-M. Estrogenic endocrine-disrupting chemicals: molecular mechanisms of actions on putative human diseases // J. Toxicol. Environ. Health. B Crit. Rev. – 2014. – V.17. – № 3. – P.127-174.*
2. *Жолдакова З.И., Синицына О.О., Харчевникова Н.В. Современное состояние вопроса о токсичности бисфенола А при воздействии в дозах, близких к признанным безопасными // Токсикологический вестник. 2012. – № 4 (115). – С. 19-25.*
3. *Vandenberg L.N., Maffini M.V., Sonnenschein C. et al. Bisphenol-A and the great divide: a review of controversies in the field of endocrine disruption // Endocr. Rev. – 2009. – V. 30. – № 1. – P. 75-95.*
4. *Паткин Е.Л., Софронов Г.А. Эколого-зависимые заболевания человека: эпигенетические механизмы возникновения и наследования // Медицинский академический журнал. – 2015. – Т. 15. – № 3. – С. 7-23.*
5. *Дергачева Н.И., Паткин Е.Л., Сучкова И.О., Софронов Г.А. Бисфенол А и болезни человека. Механизмы действия // Экологическая генетика. – 2019. – Т. 17. – № 3. – С. 87-98.*
6. *Mileva G., Baker S.L., Konkle A.T.M., Bielajew C. Bisphenol-A: epigenetic reprogramming and effects on reproduction and behavior // Int. J. Environ. Res. Public. Health. – 2014. – V. 11. – № 7. – P. 7537–7561.*
7. *Gioiosa L., Parmigiani S., vom Saal F.S., PaolaPalanza. The effects of bisphenol A on emotional behavior depend upon the timing of exposure, age and gender in mice // Horm. Behav. – 2013. – V. 63. – P. 598-605.*
8. *McCarthy M.M. Is sexual differentiation of brain and behavior epigenetic? // Curr. Opin. Behav. Sci. – 2019. – V. 25. – P. 83-88.*
9. *Qin T., Zhang X., Guo T. et al. Epigenetic alteration shaped by the environmental chemical bisphenol A // Front genet. – 2021. – V. 11. – e618966.*
10. *Мустафин Р.Н., Казанцева А.В., Еникеева Р.Ф. и др. Эпигенетика агрессивного поведения // Генетика. 2019. – Т. 55. – № 9. – С. 987-997.*
11. *Crews D. Epigenetics, brain, behavior, and the environment // Hormones (Athens). – 2010. – V. 9. – (1). – P. 41-50.*
12. *Jeong H., Mendizabal I., Berto S. et al. Evolution of DNA methylation in the human brain // Nat. Comm. – 2021. – V. 12. – № 1. – e2021.*
13. *Suguna S., Nandal D.H., Kamble S. et al. Genomic DNA isolation from human whole blood samples by nonenzymatic salting out method // Int. J. Pharm. Pharmac. Sci. – 2014. – V. 6. – № 6. – P. 198-199.*
14. *Suchkova I.O., Sasina L.K., Dergacheva N.I. et al. The influence of low dose Bisphenol A on whole genome DNA methylation and chromatin compaction in different human cell lines // Toxicology in Vitro. – 2019. – V. 58. – P. 26-34.*

* * *

ВЛИЯНИЕ КИССПЕПТИНА-6 И КИССПЕПТИНА-10 НА ЭКСПРЕССИЮ KISS1RA И KISS1RB В МОЗГЕ DANIO RERIO ПОСЛЕ СОЦИАЛЬНОЙ ИЗОЛЯЦИИ И ТЕСТА ПОЛОВОГО ПОВЕДЕНИЯ

Перова А.П.[1,2], Гольц В.А.[1], Танянский Д.А.[1], Крамскова М.А.[2]

[1]Институт экспериментальной медицины,
[2]Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербург

Аннотация. *Цель работы — оценить влияние кисспептина-6 и кисспептина-10 на экспрессию генов рецепторов кисспептина kiss1ra и kiss1rb в мозге Danio rerio после социальной изоляции и последующего теста полового поведения. В исследование включили 80 рыб. Социальную изоляцию моделировали индивидуальным содержанием в ёмкостях объёмом 200 мл в течение 48 ч. После изоляции рыб объединяли в группы по 7 самцов и 4 самки, проводили видеорегистрацию поведения и применяли кисспептин-6, кисспептин-10 или хорионический гонадотропин человека в концентрации 0,1 мг/л. Экспрессию kiss1ra и kiss1rb в мозговой ткани оценивали методом ПЦР в реальном времени. Социальная изоляция сопровождалась снижением экспрессии kiss1ra и повышением kiss1rb. Кисспептин-6 частично смещал экспрессию обоих генов к контрольным значениям, тогда как кисспептин-10 не устранял изменения, связанные с изоляцией.*

Ключевые слова: *Danio rerio, социальная изоляция, половое поведение, кисспептин-6, кисспептин-10, kiss1ra, kiss1rb.*

Введение. Социальная изоляция изменяет поведенческие и нейроэндокринные реакции у *Danio rerio*. Индивидуальное содержание влияет на тревогоподобное поведение и уровень кортизола, а лишение социальных контактов сопровождается перестройкой активности нейронных сетей, участвующих в обработке социальных стимулов [1, 2]. Поэтому данную модель используют для изучения связи между стрессом, социальным контекстом и центральной регуляцией поведения.

Одной из систем, способных связывать стрессовые и репродуктивные сигналы, является кисспептинергическая система. У костистых рыб описаны два лиганда — Kiss1 и Kiss2 — и несколько типов рецепторов, сформировавшихся в ходе дупликации и последующей утраты генов [3]. В отличие от млекопитающих, у рыб кисспептиновый сигналинг не всегда обязателен для сохранения фертильности, но участвует в регуляции оси «мозг–гипофиз–гонады» и в настройке поведенческих реакций [3].

У *Danio rerio* два гена рецепторов традиционно обозначают как *kiss1ra* и *kiss1rb*. Их продукты различаются распределением, транскрипционными вариантами и чувствительностью к лигандам [4, 5]. Для телостов также показана функциональная дивергенция рецепторов при воздействии разных фрагментов кисспептина [6]. Отдельный интерес представляет связь Kiss1-сигналинга в хабенуле с серотонинергической системой, мотивацией и эмоционально-поведенческими реакциями [7]. Половое поведение *Danio rerio* при этом зависит от социального окружения и конкурентного взаимодействия самцов [8].

Сочетание социальной изоляции, последующего группового теста полового поведения и фармакологического воздействия позволяет оценить, одинаково ли меняются паралоги рецепторов кисспептина в условиях стрессовой и репродуктивной стимуляции. В настоящей работе анализировали экспрессию только *kiss1ra* и *kiss1rb*; данные по андрогеновому рецептору в исходных результатах отсутствовали и в анализ не включались.

Цель. Оценить влияние кисспептина-6 и кисспептина-10 на экспрессию *kiss1ra* и *kiss1rb* в мозговой ткани *Danio rerio* после 48-часовой социальной изоляции и последующего теста полового поведения.

Материалы и методы. В исследовании использовали 80 рыб *Danio rerio*, выращенных в лаборатории общей фармакологии ФГБНУ «ИЭМ». До начала эксперимента животных выдерживали в течение двух недель для адаптации и карантина. Социальную изоляцию моделировали индивидуальным содержанием рыб в ёмкостях объёмом 200 мл в течение 48 ч.

После завершения изоляции формировали экспериментальные условия для интактных рыб и изолянтов. В каждой выборке применяли кисспептин-6 или кисспептин-10 в концентрации 0,1 мг/л; препаратом сравнения служил хорионический гонадотропин человека (ХГЧ) в концентрации 0,1 мг/л. Таким образом, анализ включал контроль, ХГЧ-контроль, кисспептин-10, кисспептин-6, изолянтов без воздействия, изолянтов с ХГЧ, изолянтов с кисспептином-10 и изолянтов с кисспептином-6.

Для теста полового поведения отбирали самцов и самок; пол определяли визуально по внешним морфологическим признакам. В общий аквариум помещали 7 самцов и 4 самки, после чего поведение регистрировали на видео в течение суток. По окончании наблюдения животных выводили из эксперимента, извлекали мозг и выделяли РНК. После обратной транскрипции методом ПЦР в реальном времени определяли относительный уровень мРНК *kiss1ra* и *kiss1rb*. В качестве референсного гена использовали *gapdh* (GAPDH). Межгрупповые сравнения, для которых получены статистически значимые различия, обозначены на рисунке 1.

Эксперимент проводили с соблюдением международных рекомендаций по содержанию и использованию лабораторных животных и положений Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» (протокол № 6 от 14.06.2022).

Результаты и обсуждение. Для *kiss1ra* выявлен выраженный контраст между интактными рыбами и изолянтами. После социальной изоляции уровень мРНК был ниже контрольного. У интактных рыб ХГЧ и кисспептин-10 сопровождались повышением экспрессии относительно контроля, тогда как кисспептин-6 снижал показатель. На фоне изоляции кисспептин-6 частично повышал экспрессию *kiss1ra* по сравнению с изолянтами без фармакологического воздействия. Кисспептин-10, напротив, не восстанавливал показатель: в этой группе отмечены наиболее низкие значения. ХГЧ после изоляции также вызывал лишь небольшой сдвиг вверх, не достигающий контрольного уровня.

Для *kiss1rb* получен противоположный профиль. Социальная изоляция сопровождалась многократным повышением экспрессии относительно контроля. Кисспептин-6 и ХГЧ снижали этот подъём и смещали показатель в сторону контрольных значений. При применении кисспептина-10 после изоляции экспрессия *kiss1rb* оставалась высокой.

У интактных рыб кисспептин-6 не повышал *kiss1rb*, тогда как кисспептин-10 вызывал умеренное увеличение показателя.

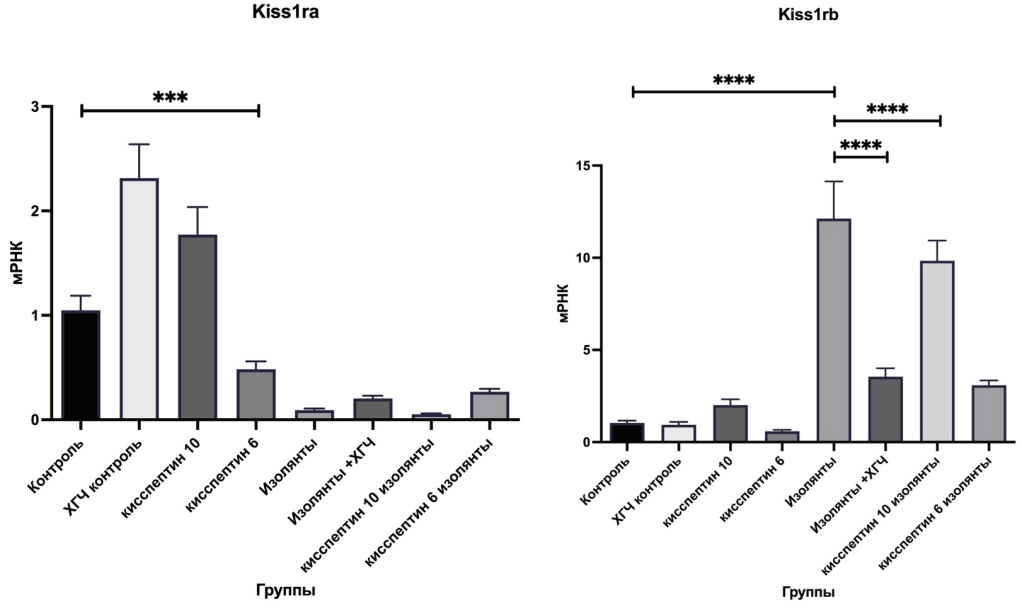


Рис.1.
Относительный уровень мРНК *kiss1ra* (слева) и *kiss1rb* (справа) в мозговой ткани *Danio rerio*. *** p < 0,001; **** p < 0,0001

Разнонаправленные изменения *kiss1ra* и *kiss1rb* согласуются с функциональной дивергенцией дуплицированных рецепторов кисспептина у телостов [4–6]. В условиях изоляции кисспептин-6 частично компенсировал оба сдвига: повышал сниженный *kiss1ra* и уменьшал повышенный *kiss1rb*. Кисспептин-10 действовал иначе и не устранял профиль, связанный с изоляцией. Эти результаты отражают ассоциацию фармакологического воздействия с транскрипционным ответом, но не позволяют отделить вклад самой изоляции от влияния последующего группового теста полового поведения. Кроме того, изменение уровня мРНК не тождественно изменению количества или активности рецепторного белка.

Заключение. Социальная изоляция с последующим тестом полового поведения сопровождалась противоположными изменениями двух паралогов рецепторов кисспептина в мозге *Danio rerio*: снижением *kiss1ra* и повышением *kiss1rb*. Кисспептин-6 и кисспептин-10 модифицировали этот профиль неодинаково. Наиболее последовательный сдвиг к контрольным значениям наблюдался при применении кисспептина-6, тогда как кисспептин-10 сохранял или усиливал изменения, связанные с изоляцией. Полученные данные поддерживают представление о различной регуляции дуплицированных компонентов кисспептиновой системы у костистых рыб.

Выводы.

1. Социальная изоляция была связана со снижением экспрессии *kiss1ra* и повышением экспрессии *kiss1rb* в мозговой ткани *Danio rerio.*

2. Кисспептин-6 после изоляции частично повышал *kiss1ra* и снижал *kiss1rb*, смещая оба показателя к контрольному профилю.

3. Кисспептин-10 после изоляции не нормализовал экспрессию исследованных генов: *kiss1ra* оставался сниженным, а *kiss1rb* — повышенным.

Список литераутры:

1. *Onarheim T. The effects of social vs. individual housing of zebrafish on whole-body cortisol and behavior in two tests of anxiety / T. Onarheim, A. M. Janczak, J. Nordgreen // Frontiers in Veterinary Science. — 2022. — Vol. 9. — Art. 859848. — DOI: 10.3389/fvets.2022.859848.*
2. *Tunbak H. Whole-brain mapping of socially isolated zebrafish reveals that lonely fish are not loners / H. Tunbak, M. Vazquez-Prada, T. M. Ryan [et al.] // eLife. — 2020. — Vol. 9. — Art. e55863. — DOI: 10.7554/eLife.55863.*
3. *Wang B. Overview and new insights into the diversity, evolution, role, and regulation of kisspeptins and their receptors in teleost fish / B. Wang, A. S. Mechaly, G. M. Somoza // Frontiers in Endocrinology. — 2022. — Vol. 13. — Art. 862614. — DOI: 10.3389/fendo.2022.862614.*
4. *Biran J. Molecular identification and functional characterization of the kisspeptin/kisspeptin receptor system in lower vertebrates / J. Biran, S. Ben-Dor, B. Levavi-Sivan // Biology of Reproduction. — 2008. — Vol. 79, no. 4. — P. 776–786. — DOI: 10.1095/biolreprod.107.066266.*
5. *Onuma T. A. Duplicated Kiss1 receptor genes in zebrafish: distinct gene expression patterns, different ligand selectivity, and a novel nuclear isoform with transactivating activity / T. A. Onuma, C. Duan // The FASEB Journal. — 2012. — Vol. 26, no. 7. — P. 2941–2950. — DOI: 10.1096/fj.11-201095.*
6. *Felip A. Differential activation of kiss receptors by Kiss1 and Kiss2 peptides in the sea bass / A. Felip, F. Espigares, S. Zanuy, A. Gómez // Reproduction. — 2015. — Vol. 150, no. 3. — P. 227–243. — DOI: 10.1530/REP-15-0204.*
7. *Ogawa S. Biological significance of kisspeptin–Kiss1 receptor signaling in the habenula of teleost species / S. Ogawa, I. S. Parhar // Frontiers in Endocrinology. — 2018. — Vol. 9. — Art. 222. — DOI: 10.3389/fendo.2018.00222.*
8. *Darrow K. O. Characterization and development of courtship in zebrafish, Danio rerio / K. O. Darrow, W. A. Harris // Zebrafish. — 2004. — Vol. 1, no. 1. — P. 40–45. — DOI: 10.1089/154585404774101662.*

* * *

ИЗМЕНЕНИЯ В ГУМОРАЛЬНОМ ЗВЕНЕ АДАПТИВНОГО ИММУНИТЕТА У ПАЦИЕНТОВ С АНКИЛОЗИРУЮЩИМ СПОНДИЛИТОМ, АССОЦИИРОВАННЫМ С БОЛЕЗНЬЮ КРОНА

Рубинштейн А.А., Кудрявцев И.В.
Институт экспериментальной медицины,
Санкт-Петербург

Аннотация. *Анкилозирующий спондилит (АС), ассоциированный с болезнью Крона (БК), является типом спондилоартрита, развивающегося у пациентов, страдающих БК. Патогенез заболевания до конца не изучен, однако результаты актуальных исследований показывают вовлечение гуморального звена иммунитета в патологический процесс при данной патологии. Цель исследования: выявление иммунологических особенностей В-клеток периферической крови пациентов с АС, ассоциированным с БК. Материалы и методы: набраны группы пациентов: БК (n=16), АС+БК (n=13) и АС (n=13). Объектом исследования выступала периферическая кровь, фенотипирование лимфоцитов проводилось при помощи проточной цитометрии. Результаты: общее количество фолликулярных CD4+ Т-клеток (Tfh) и В-клеток не отличалось между тремя группами. Группа АС+БК отличалась наибольшей частотой Tfh1 по сравнению с АС, Tfh2 по сравнению с БК и наименьшей частотой Tfh17 по сравнению с АС, IgD−CD38− и IgD−CD27+ В-клеток по сравнению с БК. Tfh17 и IgD−CD27+ В-клетки отрицательно коррелировали с острофазовыми показателями, Tfh2 положительно коррелировала с индексом BASDAI.*

Ключевые слова: *анкилозирующий спондилит, болезнь Крона, спондилоартрит ассоциированный с ВЗК, В-клетки, субпопуляции Tfh, фенотипирование, лимфоциты.*

Анкилозирующий спондилит (АС), ассоциированный с болезнью Крона (БК), является одной из нозологических форм спондилоартритов (СпА) с низкой частотой встречаемости в популяции [1]. До 50% пациентов, страдающих воспалительными заболеваниями кишечника (ВЗК), имеют проявления симптоматики со стороны опорно-двигательного аппарата, у 16% из них обнаруживается АС, а в 20% случаев выявляется сакроилиит и периферический артрит [2]. Пациенты со СпА, в свою очередь, также имеют риск развития ВЗК. Согласно данным актуальных исследований, распространённость ВЗК у больных АС составляет до 14% [3].

На настоящий момент различными исследователями проводится тщательное изучение общности патогенеза ВЗК и СпА. Учитывая эффективность генно-инженерных препаратов, направленных на сигнальный каскад IL-23/IL-17A, справедливо предположить ключевую роль иммунного ответа 3-го типа в патогенезе данных патологий [4]. Однако, исследования последних лет показывают вовлечение и гуморального звена иммунитета в патологический процесс как при ВЗК, так и при СпА. Так, у пациентов со СпА все чаще выявляется наличие антител к CD74, хотя ранее заболевания группы СпА считались серонегативными артропатиями [5]. При ВЗК в периферической крови также могут выявляться перинуклеарные антинейтрофильные цитоплазматические антитела (pANCA) и антитела к *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) [6]. На основании вышепере-

численных данных мы предположили, что при АС, ассоциированном с БК, в патологическом процессе участвуют клетки гуморального звена адаптивного иммунитета на системном и локальном уровнях.

Цель. Целью нашего исследования выступало выявление фенотипических различий В-лимфоцитов и фолликулярных CD4+ Т-лимфоцитов (Tfh) периферической крови между пациентами с АС, ассоциированном с БК, и пациентами, страдающими только АС без поражения органов ЖКТ, и только БК без вовлечения в патологический процесс опорно-двигательного аппарата.

Материалы и методы. В исследование были включены 13 пациентов с АС, ассоциированным с БК (Группа АС+БК), 16 пациентов с БК (Группа БК) и 13 пациентов с АС (Группа АС), сопоставимых по полу и возрасту. Верификация диагноза АС проводилась с использованием Модифицированных Нью-Йоркских критериев 1984 г., критерием включения было активное течение заболевания, оцениваемое по валидированным индексам активности BASDAI (от англ. Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index) и ASDAS (от англ. Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score) с использованием концентрации С-реактивного белка (СРБ) в периферической крови. Диагноз БК выставлялся на основании клинико-лабораторных, эндоскопических и морфологических данных врачом-гастроэнтерологом в специализированном центре ВЗК. Критерием включения выступало активное течение БК согласно индексам активности Беста и Харви-Брэдшоу. Верификация диагноза АС, ассоциированного с БК, проводилась в случаях одновременного удовлетворения диагностическим критериям двум групп АС и БК. Критериями исключения являлись: онкологическая патология в настоящее время и в анамнезе, беременность, другие ревматологические заболевания, обострение хронических заболеваний, острые и хронические инфекционные патологии, высокие дозы системных глюкокортикостероидов.

Объектом исследования выступала периферическая венозная кровь, собранная в пробирку с К3ЭДТА объемом 4 миллилитра (мл). Все исследования проводились в течении 2 часов после получения биологического материала. Для выявления субпопуляций В-лимфоцитов использовалась иммунологическая панель антител, конъюгированных с флуорохромами: IgD (конъюгирован с Alexa Fluor 488), CD38 (конъюгирован с PE), CD27 (конъюгирован с PC7), CD19 (конъюгирован с APC/Cy7) и CD45 (конъюгирован с Krome Orange). Для выявления Tfh и их субпопуляций использовалась следующая иммунологическая панель антител против поверхностных антигенов человека: CD45RA (конъюгирован с FITC), CD62L (конъюгирован с PE), CXCR5 (конъюгирован с PerCP/Cy5.5), CCR6 (конъюгирован с Pe/Cy7), CXCR3 (конъюгирован с APC), CD3 (конъюгирован с APC-AF750), CD4 (конъюгирован с Pacific Blue) и CCR4 (конъюгирован с Brilliant Violet 510). Фенотипирование лимфоцитов производилось на проточном цитометре Navios 3/10 (Beckman Coulter, США).

Обработка результатов проточной цитометрии проводилась с использованием программного обеспечения FlowJo™ v10 474 Software (BD Bioscience Inc., США; www.flowjo.com). Статистический анализ данных проводился с помощью программы IBM SPSS software v26 (SPSS Inc., США; www.ibm.com). Для проверки на нормальность распределения использовались критерии Шапиро–Уилка и Колмогорова–Смирнова. Межгрупповые сравнения выполнялись при помощи непараметрического U-критерия Манна–Уитни. Результаты статистических обсчетов представлены в виде медианы и межквартильного размаха – Me (Q0,25–Q0,75).

Результаты и обсуждение. Для сравнения абсолютного и относительного количества В-лимфоцитов в периферической крови между тремя группами пациентов, нами был проанализирован основной линейный маркер на поверхности В-клеток – CD19. Было выявлено, что пациенты во всех трех группах не отличались по абсолютному и относительному количеству В-клеток (CD45+++CD19+).

Для анализа субпопуляций В-клеток периферической крови было использовано несколько подходов к фенотипированию. Первый подход на основе экспрессии IgD и CD38 позволил выявить 'наивные' Bm1 клетки (IgD+CD38−), 'активированные наивные' Bm2 клетки (IgD+CD38+), клетки-предшественники герминативного центра Bm2′ (IgD+CD38++), центробласты и центроциты Bm3+Bm4 (IgD−CD38++), ранние В-клетки памяти eBm5 (IgD−CD38+) и покоящиеся В-клетки памяти Bm5 (IgD−CD38−). Второй подход на основе экспрессии IgD и CD27 выявил 'наивные' В-клетки (IgD+CD27−), В-летки памяти, не переключившие класс синтезируемых антител (IgD+CD27+), В-клетки памяти с уже переключенным классом синтезируемых антител (IgD−CD27+), дважды негативные В-клетки (IgD−CD27−) и плазмобласты (IgD−CD27++). Среди всех популяций у пациентов с АС+БК отмечалось снижение концентрации Bm5 и В-клеток памяти с переключенным классом синтезируемых антител по сравнению с пациентами с БК (0.42 (0.33−0.64) против 1.02 (0.46−1.48) при p = 0.032; 1.01 (0.62−1.31) против 1.83 (1.05−2.67) при p = 0.045, соответственно).

Для оценки 'поляризованных' CD4+ Т-клеток (Th) использовалось многоцветное окрашивание на хемокиновые рецепторы CXCR5, CXCR3, CCR4 и CCR6, как было предложено ранее [7]. Данный подход помог нам выделить следующие популяции клеток: Th1 (CXCR5–CCR6–CXCR3+CCR4–), Th2 (CXCR5–CCR6–CXCR3–CCR4+), Th17 (CXCR5–CCR6+CXCR3–CCR4–), Tfh (CXCR5+). Также пошаговое гейтирование дало нам возможность выделить субпопуляции Tfh: Tfh1 (CXCR3+CCR6–), Tfh17 (CXCR3–CCR6+), Tfh2 (CXCR3–CCR6–), и 'дважды позитивные' DP Tfh (CXCR3+CCR6+).

Общая частота Th1, Th2, Th17 и Tfh не отличалась между тремя группами. Однако, субпопуляция Tfh1 в группе АС была достоверно ниже по сравнению как с группой БК (11.19% (10.69−16.09) против 19.35% (12.45−22.99) при p = 0.025), так и с группой АС+БК (11.19% (10.69−16.09) против 17.73% (12.95−20.92) при p = 0.009). Концентрация Tfh2 в группе АС+БК была выше по сравнению с группой БК (31.14% (28.32−33.50) против 22.95% (18.69−28.86) при p = 0.015). В свою очередь, частота Tfh17 у пациентов с АС+БК была ниже, чем у пациентов с АС (25.95% (22.72−31.84) против 33.81% (26.94−39.05) при p = 0.029). Дважды позитивная субпопуляция Tfh между группами не различалась (Рисунок 1).

Диаграммы рассеяния (А–Г) показывают процентное содержание популяций Tfh1, Tfh2, Tfh17 и DP Tfh, соответственно. Черные круги обозначают пациентов с болезнью Крона (БК, n=16); черные квадраты – пациентов с анкилозирующим спондилитом, ассоциированным с болезнью Крона (АС+БК, n=13); белые круги – пациентов с анкилозирующим спондилитом (АС, n=13). Каждая точка представляет собой отдельного субъекта, горизонтальные линии отражают медиану распределения и квартильные диапазоны Me (Q0,25–Q0,75). Межгрупповые сравнения выполнялись при помощи непараметрического U-критерия Манна–Уитни.

Интересно, у группы АС+БК популяция Bm5 и В-клетки памяти с переключенным классом синтезируемых антител (IgD−CD27+) имели сильную положительную корреляцию с субпопуляцией Tfh17 (r = 0.775 при p = 0.002 для Bm5; r = 0.709 при p = 0.007 для

IgD−CD27+ B-клеток). Кроме того, при анализе корреляционных взаимосвязей субпопуляций лимфоцитов и острофазовых показателей (СРБ и скорости оседания эритроцитов (СОЭ)) были выявлены отрицательные корреляции между СРБ и Tfh17 (r = −0.57 при p = 0.044), СОЭ и B-клетками памяти с переключенным классом синтезируемых антител (IgD−CD27+) (r = −0. 59 при p = 0.033). Среди всех индексов активности только BASDAI имел статистически-значимую положительную корреляцию с популяций Tfh2 (r = 0.64 при p = 0.017) (Рисунок 2).

Статистический анализ проводился с использованием корреляционного критерия Спирмена. Корреляционные результаты представлены в виде градиента, где светло-зеленые квадраты отражают отрицательную корреляцию, а темно-зеленые – положительную. Точные значения коэффициента корреляции Спирмена представлены в виде числовых значений внутри квадратов.

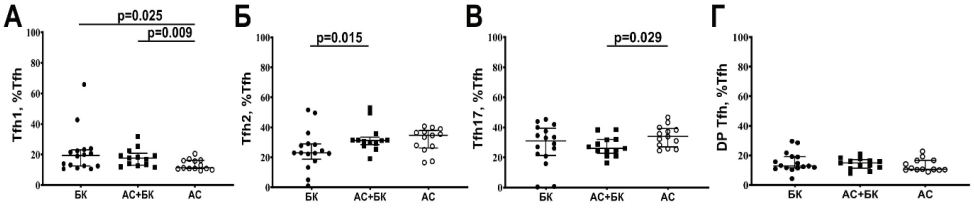


Рис.1.
Различия между субпопуляциями Tfh в трех группах

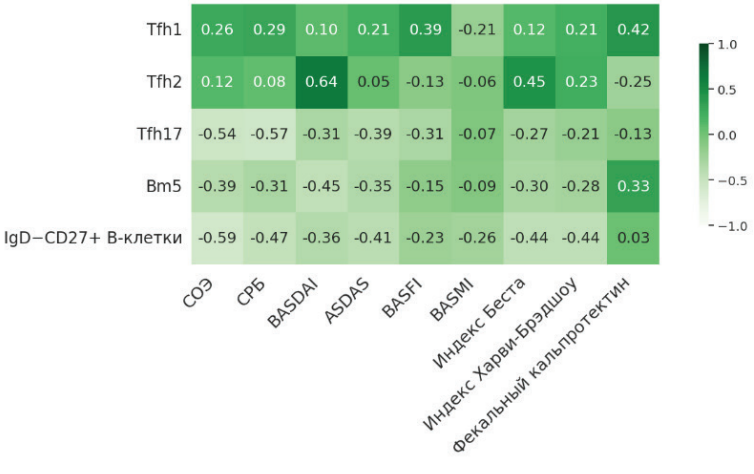


Рис.2.
Корреляционная матрица

В группе АС+БК отмечались увеличение популяции Tfh2 по сравнению с БК и положительная корреляция Tfh2 с индексом активности BASDAI. Известно, что Tfh2 способствуют переключению класса синтезируемых антител преимущественно в сторону IgE и IgG4 [8]. IgE преимущественно участвует в развитии аллергических реакций, тогда как IgG4 ответственен за формирование фиброза [9, 10]. Исследования последних лет показали, что у пациентов с АС в очагах воспаления присутствуют IgG4+ В-клетки [11]. Таким образом, у пациентов с АС+БК увеличение циркулирующих Tfh2 может быть вызвано хроническим воспалением и способствовать развитию фиброзной ткани, формированию анкилозов.

Популяция Tfh1 отмечалась увеличенной в группе АС+БК и БК по сравнению с группой АС. Субпопуляция Tfh1 отличается меньшей способностью стимулировать В-клетки по сравнению с Tfh2 и Tfh17 [12]. Кроме того, у неё преобладают регуляторные функции, заключающиеся в торможении спонтанного и избыточного деления В-клеток [13]. Вероятно, в группах АС+БК и БК отмечалось менее выраженное снижение этой популяции в связи с необходимостью селективного В-клеточного ответа на антигены бактерий на уровне слизистой оболочки кишечника. Это предположение могут доказывать выявленные нами изменения в популяции Tfh17 и В-клетках памяти с переключенным классом синтезируемых антител у пациентов с АС, ассоциированным с БК. В группе АС+БК отмечалось более выраженное снижение популяции Tfh17 по сравнению с АС и IgD−CD27+ В-клеток по сравнению с БК. Нами также были выявлены сильные положительные корреляции между этими популяциями. Кроме того, Tfh17 и IgD−CD27+ В-клетки негативно коррелировали с острофазовыми показателями СРБ и СОЭ, соответственно (Рисунок 2). Таким образом, можно предположить, что Tfh17 и В-клетки памяти с переключенным классом синтезируемых антител мигрируют в очаг воспаления в слизистой оболочке кишечника, где способствуют продукции секреторного IgA для опсонизации и снижения проникновения условно-патологических микроорганизмов (так называемое иммунное исключение «immune exclusion») [14].

В представленном исследовании были выявлены фенотипические изменения Tfh и В-клеток наиболее характерные для АС, ассоциированного с БК. Нарушения в звене Tfh носят хронический провоспалительный характер, тогда как изменения В-клеточного компонента адаптивного иммунитета при данной патологии имеют, в первую очередь, компенсаторной характер и направлены на разрешение воспаления.

Вывод. Tfh1 у пациентов с АС, ассоциированным с БК, играют провоспалительную роль и могут способствовать формированию наиболее селективного антиген-специфического клона В-лимфоцита на уровне слизистой оболочки кишечника. Частота Tfh2 коррелирует с активностью АС и может участвовать в формировании анкилозов. При АС, ассоциированном с БК, Tfh17 и В-клетки памяти с переключенным классом синтезируемых антител, вероятно, играют противовоспалительную роль и могут способствовать разрешению воспаления на уровне кишечной стенки.

Данная работа выполнена при финансовой поддержке плановой теме НИР ФГБНУ «ИЭМ» FGWG-2025-0004 (рег. № 1022041101001-1).

Список литературы:

1. *Proft F., Poddubnyy D. Ankylosing spondylitis and axial spondyloarthritis: recent insights and impact of new classification criteria // Ther Adv Musculoskelet Dis. — 2018. — Vol. 10(5-6). — P. 129–139. doi: 10.1177/1759720X18773726.*

2. *Salvarani C., Fries W. Clinical features and epidemiology of spondyloarthritides associated with inflammatory bowel disease // World J Gastroenterol. — 2009. — Vol. 15, № 20. — P. 2449–2455. doi: 10.3748/wjg.15.2449.*
3. *Hafis Muhammed, Agarwal Vikas. Colitis in Spondyloarthritis // Indian Journal of Rheumatology. — 2020. — Vol. 15, Suppl 1. — P. S52–S56. doi: 10.4103/0973-3698.284752.*
4. *Рубинштейн А. А., Гапонов Н. Д., Давыдов Д. А., Дюньдик В. В., Марченко В. Н., Кудрявцев И. В. Ось IL-23/ IL-17 в патогенезе и терапии аксиального спондилоартрита, ассоциированного с воспалительными заболеваниями кишечника // Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости. — 2024. — № 3. — С. 65–74. doi: 10.24884/1609-2201-2024-103-3-65-74.*
5. *Riechers E., Baerlecken N., Baraliakos X. et al. Sensitivity and Specificity of Autoantibodies Against CD74 in Nonradiographic Axial Spondyloarthritis // Arthritis Rheumatol. — 2019. — Vol. 71, № 5. — P. 729–735. doi: 10.1002/art.40777.*
6. *Mokrowiecka A., Gasiorowska A., Malecka-Panas E. pANCA and ASCA in the diagnosis of different subtypes of inflammatory bowel disease // Hepatogastroenterology. — 2007. — Vol. 54, № 77. — P. 1443–1448.*
7. *Kudryavtsev I., Serebriakova M., Starshinova A. et al. Imbalance in B cell and T Follicular Helper Cell Subsets in Pulmonary Sarcoidosis // Sci Rep. — 2020. — Vol. 10, № 1. — P. 1059. doi: 10.1038/s41598-020-57741-0.*
8. *Christodoulou M., Moysidou E., Lioulios G. et al. T-Follicular Helper Cells and Their Role in Autoimmune Diseases // Life (Basel). — 2025. — Vol. 15, № 4. — P. 666. doi: 10.3390/life15040666.*
9. *Akiyama M., Yasuoka H., Yamaoka K. et al. Enhanced IgG4 production by follicular helper 2 T cells and the involvement of follicular helper 1 T cells in the pathogenesis of IgG4-related disease // Arthritis Res Ther. — 2016. — Vol. 18. — P. 167. doi: 10.1186/s13075-016-1064-4.*
10. *Shen C., Fu Q. Follicular helper T cells (Tfh): heterogeneity in spatial distribution and phenotypic characteristics // Front. Immunol. — 2025. — Vol. 16. — P. 1686687. doi: 10.3389/fimmu.2025.1686687.*
11. *Feng X., Xu X., Wang Y., Zheng Z., Lin G. Ectopic Germinal Centers and IgG4-Producing Plasmacytes Observed in Synovia of HLA-B27+ Ankylosing Spondylitis Patients with Advanced Hip Involvement // Int J Rheumatol. — 2015. — Vol. 2015. — P. 316421. doi: 10.1155/2015/316421.*
12. *Morita R., Schmitt N., Bentebibel S. E. et al. Human blood CXCR5(+)CD4(+) T cells are counterparts of T follicular cells and contain specific subsets that differentially support antibody secretion // Immunity. — 2011. — Vol. 34, № 1. — P. 108–121. doi: 10.1016/j.immuni.2010.12.012.*
13. *Rubinstein A., Kudryavtsev I., Arsentieva N., Korobova Z. R., Isakov D., Totolian A. A. CXCR3-Expressing T Cells in Infections and Autoimmunity // Front Biosci (Landmark Ed). — 2024. — Vol. 29, № 8. — P. 301. doi: 10.31083/j.fbl2908301.*
14. *Mantis N. J., Forbes S. J. Secretory IgA: arresting microbial pathogens at epithelial borders // Immunol Invest. — 2010. — Vol. 39, № 4-5. — P. 383–406. doi: 10.3109/08820131003622635.*

ВЛИЯНИЕ АНТАГОНИСТА ГРЕЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ АГРЕЛАКСА НА СТРЕСС-АССОЦИИРОВАННОЕ КОМПУЛЬСИВНОЕ ПЕРЕЕДАНИЕ У КРЫС

Садыкова Д.Р.[1,2], Надбитова Н.Д.[1], Шамаева С.А.[1], Орлова Э.Б.[1,2], Сергеева А.Д.[1,2], Пюрвеев С.С.[1,2], Некрасов М.С.[1,2], Шабанов П.Д.[1]

[1]Институт экспериментальной медицины,
[2]Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет,
Санкт-Петербург

Аннотация. *Высококалорийная пища и стресс являются провоцирующими факторами компульсивного переедания, которое патогенетически сходно с аддикциями. Цель исследования – оценить эффективность антагониста грелиновых рецепторов Агрелакса в купировании компульсивного переедания у крыс, перенесших материнскую депривацию и электростимуляцию конечностей. Эксперименты проведены на 80 самцах крыс линии Вистар. Крыс-самцов подвергали материнской депривации в раннем онтогенезе и электростимуляции конечностей с последующей выработкой компульсивного переедания во взрослом возрасте. Агрелакс вводили интраназально (10 мкг/сут, 7 дней). Стрессорные воздействия значимо усиливали проявления компульсивного переедания ($p<0,01$) и гиперкомпульсивность ($p<0,01$). Введение Агрелакса эффективно купировало проявления компульсивного переедания ($p<0,05$).*

Ключевые слова: *компульсивное переедание, материнская депривация, электростимуляция конечностей, Агрелакс.*

Введение. На сегодняшний день ожирение и стресс-ассоциированные состояния представляют собой масштабную медико-социальную проблему. В патогенезе ожирения ключевую роль играет концепция «пищевой зависимости» и компульсивное переедание (КП) – эпизодическое неконтролируемое потребление пищи, не обусловленное физиологическим голодом. КП часто выступает в качестве механизма преодоления негативных эмоций, что связывают с гипофункцией системы вознаграждения мозга и гиперактивацией эмоционального стресс-ответа [1].

Важным нейроэндокринным медиатором связи стресса и пищевого поведения является система грелина. Грелин – орексигенный пептид, состоящий из 28 аминокислот, преимущественно синтезируется эндокриноцитами слизистой оболочки кардиальной части желудка, а также нейронами латеральной части аркуатного ядра гипоталамуса [2]. Рецепторы грелина (GHSR1A) широко экспрессируются как в периферических органах (ЖКТ, надпочечники, щитовидная железа, миокард), так и в структуры ЦНС (гипоталамус, гипофиз, гиппокамп, миндалина, ядра ствола мозга и неокортекс) [2]. Грелин участвует в регуляции пищевого поведения, зависимости от психостимуляторов и алкоголя [3], а также в модуляции ответа на стрессорные стимулы [4]. У пациентов с компульсивным перееданием отмечено снижение периферического грелина перед едой, что может быть связано с нейрохимическими механизмами данного расстройства [5].

На сегодняшний день, представлено крайне ограниченное количество препаратов, оказывающих влияние на компульсивное переедание. Лишь один препарат (лис-

десамфетамин) оказывает достоверное влияние на компульсивное переедание, однако он имеет множество побочных эффектов. Недостаточная эффективность существующих подходов к терапии ожирения обусловливает необходимость поиска новых молекулярных мишеней и фармпрепаратов. В ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» был разработан пептидный антагонист грелина Агрелакс, активный в отношении рецепторов GHSR1A грелина [6].

Цель. Оценить эффективность антагониста грелиновых рецепторов Агрелакса в купировании компульсивного переедания у крыс, перенесших материнскую депривацию и электростимуляцию конечностей.

Материалы и методы исследования. Эксперименты проведены на 80 самцах крыс линии Вистар массой 200-250 г. полученных из питомника лабораторных животных «Рапполово» (Ленинградская область). Животных содержали в стандартных пластиковых клетках в режиме инвертированного света 8:00–20:00 при температуре 22 ± 2 °C и свободном доступе к воде и пище.

Крысы были разделены на три группы: 1) Контроль (интактные животные, не подвергавшиеся стрессированию, n=32); 2) МД (животные, перенесшие материнскую депривацию, n=24); 3) FS (животные, подвергавшиеся электростимуляции конечностей, n=24). Каждая группа включала подгруппы интактных животных (содержавшихся на стандартном рационе, n=8) и животных с доступом к высококалорийной диете (n=16).

Модель материнской депривации (МД). Со 2-го по 12-й постнатальный день крысят ежедневно изолировали от матери на 180 мин с исключением визуального и сенсорного контакта. По окончании периода депривации крысят содержали стандартными группами по 5 особей. В эксперимент включали половозрелых самцов в возрасте 90–100 дней (масса 200-250 г).

Модель Foot-shock (FS). Для создания дискомфорта и формирования стресса использовали электростимуляцию конечностей (0,6 мА) в специальной камере. Эксперименты проводили 5-дневными циклами: FS применяли на 3-й (30 сек) и 5-й (60 сек) дни цикла.

Модель компульсивного переедания. Крысы получали высококалорийную пищу (шоколадная паста 52%, 33% корма, 15% воды; 3,63 ккал/г) 3 раза в неделю по 1 часу при свободном доступе к воде и стандартному комбикорму.

Поведенческий тест закапывания шариков (marble test). Для оценки компульсивного поведения животных индивидуально помещали на 30 мин в экспериментальную клетку, содержащую 20 равномерно распределенных стеклянных шариков. Регистрировали количество шариков, погруженных в подстилку более чем на 2/3 своего объема. Увеличение числа закопанных шариков расценивали как показатель возрастания уровня компульсивности.

Фармакологические препараты. В исследовании применяли пептидный антагонист грелиновых рецепторов Агрелакс, синтезированный и разработанный в ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». Препарат вводили интраназально в дозе 1 мкг/мкл (по 10 мкл в каждую ноздрю, суммарная доза – 20 мкг/животное). Курс введений составлял 7 дней.

Статистическая обработка. Статистический анализ выполняли с использованием пакета программ GraphPad Prism v. 8.0.1. Проверку нормальности распределения количественных показателей проводили с помощью критерия Шапиро–Уилка. Данные представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения (M±SD). Для

сравнения нескольких независимых групп применяли однофакторный дисперсионный анализ (One-way ANOVA) с последующим пост-хок анализом (тест Тьюки). При сравнении двух независимых выборок использовали t-критерий Стьюдента для независимых групп. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. В тесте закапывания шариков животные с КП продемонстрировали выраженную гиперкомпульсивность по сравнению с контролем ($p<0,01$), что свидетельствует о повышенном компульсивном поведении и подтверждает выработку компульсивного переедания у крыс. Семидневное введение антагониста грелиновых рецепторов Агрелакса статистически значимо снизило количество закопанных шариков до уровня контрольной группы, что свидетельствует о купировании компульсивного компонента поведения (рис. 1).

Животные с КП потребляли в среднем 9,1±0,6 г шоколадной пасты. Применение Агрелакса значимо снижало потребление высококалорийной пищи до 5,6±0,6 г ($p<0,05$). Потребление стандартного корма после применения Агрелакса снижалось до уровня интактных животных ($p<0,05$, рис. 2). Полученные данные подтверждают, что ранний стресс, моделирующий материнскую депривацию, является критическим фактором в развитии компульсивного пищевого поведения во взрослом возрасте.

У крыс, перенесших МД, потребление ШКС значимо повышалось по сравнению с группой КП без стресса ($p<0,001$). Введение антагониста снижало потребление ШКС до контрольных показателей (рис. 3). Воздействие электростимуляции увеличивало потребление ШКС ($p<0,05$). Введение Агрелакса достоверно уменьшало потребление ШКС ($p<0,01$, рис. 4).

Ожирение и стресс-индуцированные расстройства находятся в состоянии реципрокного отягощения, формируя порочный круг патогенеза [7]. Полученные результаты подтверждают, что как ранний ранний неблагоприятный опыт (материнская депривация), так и острая стрессорная нагрузка во взрослом возрасте служат критическими триггерами формирования компульсивного пищевого поведения и гедонической пищевой зависимости.

В патогенезе данных нарушений ключевую роль играет гиперактивация грелиновой сигнальной системы. Помимо гипоталамической регуляции энергетического гомеостаза, грелин активно модулирует функциональное состояние экстрагипоталамических структур – в частности, вентральной области покрова (VTA), гиппокампа и миндалины, участвуя в работе мезолимбической дофаминергической системы вознаграждения и формировании эмоционально-мотивационного ответа. Снижение компульсивного компонента поведения и нормализация потребления ШКС при применении Агрелакса указуют на блокаду центральных GHSR1a-рецепторов, ответственных за реализацию орексигенного и гедонического эффектов грелина. При этом интраназальный путь введения обеспечивает прямой транспорт пептидного молекулярного агента в ЦНС вдоль ветвей ольфакторного и тригеминального нервов, обеспечивая быструю манифестацию центральных эффектов при минимизации системной токсичности.

Заключение. Материнская депривация и электростимуляция конечностей являются критическими факторами, способствующими формированию патологического паттерна компульсивного переедания высококалорийной пищи во взрослом возрасте. Пептидный антагонист грелиновых рецепторов Агрелакс при 7-дневном интраназальном применении эффективно купирует как компульсивный компонент поведения, так

и стресс-индуцированное гиперфагическое потребление гедонически привлекательного рациона. Полученные данные указывают на перспективность грелиновых рецепторов в качестве фармакологической мишени для коррекции расстройств пищевого поведения, вызванных стрессом.

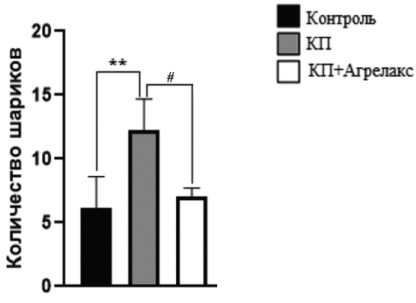


Рис.1.
Оценка компульсивного поведения в тесте закапывания шариков. КП – компульсивное переедание. ** - p<0,01; # - p<0,05

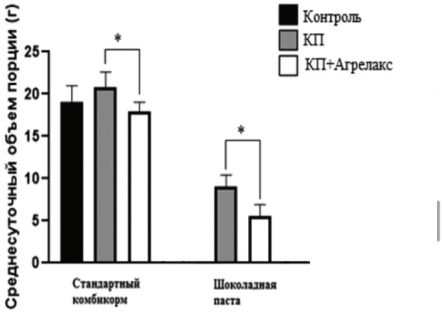


Рис.2.
Влияние антагониста грелиновых рецепторов Агрелакса на потребление высококалорийной пищи у крыс 14в модели компульсивного переедания (КП). * - p<0,05

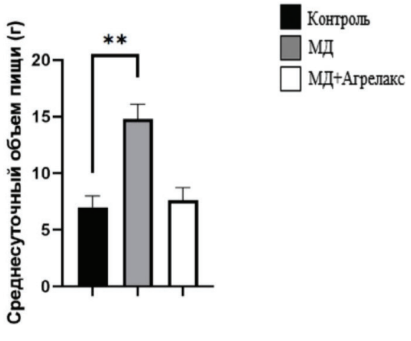


Рис.3.
Оценка действия антагонистов грелиновых рецепторов на потребление ШКС в модели компульсивного переедания у крыс, выращенных в условиях материнской депривации. ** — p<0,01

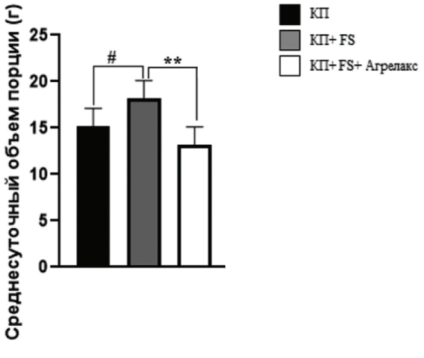


Рис.4.
Оценка действия электростимуляции конечностей и антагонистов грелиновых рецепторов на потребление ШКС в модели компульсивного переедания у крыс. # — p<0,05; * — p<0,01

Список литературы:

1. *Лебедев А.А., Пюрвеев С.С., Надбитова Н.Д. и др. Снижение компульсивного переедания у крыс, вызванного материнской депривацией в раннем онтогенезе, с применением нового антагониста рецепторов грелина агрелакс // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. — 2023. — Т. 21, № 3. С. 255–262. doi: 10.17816/RCF5628411*
2. *Gnanapavan S., Kola B., Bustin S.A., et al The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans // J Clin Endocrinol Metab. 2002. Vol. 87, No. 6. P. 2988–2991. doi: 10.1210/jcem.87.6.8739*
3. *Lebedev A.A., Karpova I.V., Bychkov E.R., Shabanov P.D. The ghrelin antagonist [D-LYS3]-GHRP-6 decreases signs of risk behavior in a model of gambling addiction in rats by altering dopamine and serotonin metabolism // Neurosci Behav Physiol. 2022. Vol. 52, No. 3. P. 415–421. doi: 10.19163/MedChemRussia2021-2021-259*
4. *Patterson Z.R., Ducharme R., Anisman H., Abizaid A. Altered metabolic and neurochemical responses to chronic unpredictable stressors in ghrelin receptor-deficient mice // Eur J Neurosci. 2010. Vol. 32, No. 4. P. 632–639. doi: 10.1111/j.1460-9568.2010.07310.x*
5. *Geliebter A., Marci E.G., Sami A.H. Plasma ghrelin concentrations are lower in binge-eating disorder // J Nutr. 2005. Vol. 135, No. 5. P. 1326–1330. doi: 10.1093/jn/135.5.1326*
6. *Лебедев А.А., Лукашкова В.В., Пшеничная А.Г., и др. Новый антагонист рецепторов грелина агрелакс участвует в контроле эмоционально-исследовательского поведения и уровня тревожности у крыс // Психофармакология и биологическая наркология. 2023. Т. 14, № 1. С. 69–79. doi: 10.17816/phbn321624*
7. *Tomiyama A.J. Stress and obesity // Annu Rev Psychol. 2019. Vol. 70. P. 703-718. doi: 10.1146/annurev-psych-010418-102936*

* * *

МЕТАЛЛ-ИНДУЦИРОВАННЫЙ ОТВЕТ МИТОХОНДРИЙ CAENORHABDITIS ELEGANS С НАРУШЕННЫМ ТРАНСПОРТОМ МЕДИ

Самусева П.Д.
Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Аннотация. *Целью работы была оценка металл-индуцированного ответа митохондрий у нематоды C. elegans с аминокислотной заменой H828Q в белке CUA-1. Сравнивали дикую (N2) и мутантную (cua-1^{H828Q}) линии нематод, культивируемых в стандартных условиях, в присутствии 50 мкМ $CuCl_2$, или 0,25 мг/л наночастиц серебра (НЧС). У мутантных нематод при обработке ионами меди снижался митохондриальный мембранный потенциал. При воздействии НЧС содержание в ядерной и митохондриальной фракциях нематод cua-1^{H828Q} содержание серебра было примерно в 3 раза выше, чем у N2. Обработка металлами вызывала изменение экспрессии генов митофагии в зависимости от стадии онтогенетического развития у особей обеих линий, но более значимо эффект проявлялся у cua-1^{H828Q}. Модель перспективна для изучения металл-индуцированной дисфункции митохондрий и скрининга ее корректоров.*

Ключевые слова: *Caenorhabditis elegans, гомеостаз меди, митофагия, митохондрии, наночастицы серебра.*

Введение. Митохондрии обеспечивают энергетический обмен, поддержание окислительно-восстановительного баланса и адаптацию клетки к стрессу. Повреждение дыхательной цепи и снижение мембранного потенциала приводят к накоплению активных форм кислорода, модификации белков и липидов, нарушение структуры мтДНК и активации программ клеточной гибели. Удаление поврежденных органелл осуществляется в процессе митофагии, в ходе которой происходит распознавание и связывание и поглощение поврежденных митохондрий аутофагосомой с последующим слиянием с лизосомой и «перевариванием». Нарушения митофагии рассматриваются как одно из общих звеньев нейродегенеративных, метаболических и сердечно-сосудистых заболеваний [1, 2]. Особое место среди факторов митохондриального повреждения занимает дисбаланс меди. Cu необходима для работы цитохром-*c*-оксидазы и антиоксидантных ферментов, однако при нарушении связывания и внутриклеточного транспорта ее лабильная фракция усиливает окислительный стресс. При болезни Вильсона (БВ) дефект медь-транспортной АТФазы ATP7B вызывает накопление Cu и сопровождается изменением структуры митохондрий, активацией аутофагии и вовлечением митохондриальных PINK1/Parkin-зависимых механизмов контроля качества [3, 4]. Нематода *C. elegans* позволяет исследовать эти процессы на уровне целого организма и сочетать генетические, молекулярные и флуоресцентные методы. Штамм *cua-1^{H828Q}* несет замену в медь-транспортной АТФазе CUA-1, соответствующую замене H1069Q в ATP7B человека, ответственной за развитие БВ, и характеризуется повышенной чувствительностью к избытку Cu [5]. Дополнительным инструментом моделирования нарушения обмена меди могут служить наночастицы серебра (НЧС). Высвобождаемые ими ионы Ag(I) способны

конкурировать с Cu(I) за клеточные транспортные системы и аккумулироваться в митохондриях. Поэтому сопоставление эффектов $CuCl_2$ и НЧС позволяет оценить, какие компоненты митохондриального ответа могут вовлекаться при нарушении метаболизма меди.

Цель. Оценить особенности металл-индуцированного митохондриального ответа и регуляции генов митофагии у *C. elegans* дикого N2 и мутантного штаммов *cua-1*^{H828Q} при воздействии $CuCl_2$ и НЧС.

Материалы и методы. В работе использовали синхронизированные популяции *C. elegans* дикого типа N2 и мутантного штамма *cua-1*^{H828Q}. Нематод культивировали в жидкой среде с *E. coli* OP50 в контрольных условиях, при добавлении 50 мкМ $CuCl_2$ или 0,25 мг/л НЧС. Для анализа экспрессии отбирали животных на стадиях L1, L2, L3, L4 и young adult (Yad). Для оценки митохондриального мембранного потенциала использовали тетраметилродаминовый эфир (TMRE). Для изучения внутриклеточного распределения Cu и Ag методом дифференциального центрифугирования изолировали ядерную фракцию, фракцию митохондрий, ассоциированных с ядрами (NAM), цитозольные митохондрии, фракцию внутриклеточных мембран и цитозоль. Содержание металлов определяли методом атомно-абсорбционной спектрометрии с нормированием на количество белка. Распределение мтДНК между фракциями оценивали методом ПЦР. Относительную экспрессию генов специализированного пути митофагии *pink-1*, *pdr-1* и *dct-1*, а также генов аутофагического аппарата *unc-51*, *atg-3* и *lgg-1* определяли методом количественной ПЦР в реальном времени. Статистическую значимость различий оценивали с применением двухфакторного дисперсионного анализа и апостериорного теста Шидака. Различия считали значимыми при $p\text{-value} < 0{,}05$.

Результаты и обсуждение. ***Измерение содержания металлов*** в субклеточных фракциях показало, что при культивировании в присутствии 50 мкМ $CuCl_2$ общее содержание Cu у N2 и *cua-1*^{H828Q} линий было сопоставимым и составляло 0,887 и 0,843 мг/г белка соответственно. Основная часть Cu обнаруживалась во фракции NAM и ядрах. Следовательно, повышение чувствительности *cua-1*^{H828Q} к Cu нельзя объяснить только накоплением металла. По-видимому, существенную роль играют изменения транспорта меди, вызванные мутацией в CUA-1, и повышенная чувствительность митохондрий к нагрузке медью. У нематод, культивируемых в присутствии 0,25 мг/л НЧС различия между штаммами были значительно выраженнее. Так, содержание Ag в ядерной фракции линии нематод *cua-1*^{H828Q} достигало 6,715 ± 1,222 мг/г белка, что примерно втрое превышает аналогичное значение для дикого штамма. такое же соотношение сохранялось в цитозольной фракции митохондрий (1,140 ± 0,706 мг/г белка у *cua-1*^{H828Q} против 0,382 ± 0,133 мг/г белка у N2). Повышенное накопление Ag в митохондриальной фракции особенно важно, поскольку ионы Ag^+ могут замещать Cu^+ в ряде медь транспортных белков, снижают каталитическую активность секреторных мультимедных оксидаз, но не влияют на активность ни цитозольной и митохондриальной Cu/Zn-супероксиддисмутаз, ни цитохро-с-оксидазы.

Внутриклеточное распределение мтДНК также зависело от штамма исследованных нематод и условий их культивирования. Так, у нематод N2, культивируемых в стандартных условиях, основная доля мтДНК выявляется в цитозольной фракции митохондрий, тогда как у нематод *cua-1*^{H828Q} она выявляется в основном во фракции содержащей ядра. При воздействии $CuCl_2$ у мутантных животных возрастала доля мтДНК

во фракциях внутриклеточных мембран и цитозоля, а после воздействия наночастиц серебра преобладала NAM-фракция. Эти изменения могут отражать усиление контактов митохондрий с ядром, фрагментацию органелл, либо выход митохондриального материала при повреждении. В сочетании с накоплением Ag и снижением TMRE-сигнала результаты указывают на нарушение не только функции, но и структуры митохондрий.

Экспрессия генов митофагии имела выраженную зависимость от стадии развития. В контроле у N2 наблюдали согласованное повышение ряда компонентов аутофагии, включая *unc-51*, *atg-3* и *dct-1*. Экспрессия *pink-1* возрастала на стадиях L2 и L3 и у молодых взрослых животных, а *dct-1* наиболее заметно активировался при переходе к репродуктивной стадии. У *cua-1*^{H828Q} профиль был менее согласованным и характеризовался преимущественными изменениями *pink-1*, *dct-1* и *lgg-1*. Таким образом, даже без внешнего воздействия мутация H828Q сопровождается перестройкой программы митохондриального контроля качества. После добавления $CuCl_2$ у N2 в основном снижалась экспрессия *dct-1*, *unc-51*, *atg-3* и *lgg-1*, что может свидетельствовать об ограниченной активации аутофагического аппарата при выбранной дозе. У *cua-1*^{H828Q}, напротив, повышалась экспрессия *pink-1* на стадиях L2-Yad, сохранялась или возрастала экспрессия *dct-1*, а на ранних личиночных стадиях активировались *unc-51* и *atg-3*. PINK-1 участвует в распознавании деполяризованных митохондрий, DCT-1 функционально соответствует рецепторам BNIP3/NIX, UNC-51 инициирует образование фагофора, а ATG-3 и LGG-1 обеспечивают формирование аутофагосомальной мембраны [6-9]. Таким образом, профиль экспрессии генов ауто- и митофагии, отражает последовательное вовлечение нескольких этапов митофагии в ответ на медь-индуцированное повреждение у мутантного штамма. Ответ на НЧС отличался от ответа на $CuCl_2$. Так, обработка НЧС у N2 вызывала умеренное повышение *pink-1* с максимумом на стадии L3, снижение *pdr-1* и *dct-1* и подавление *unc-51* и *lgg-1* на поздних стадиях. У *cua-1*^{H828Q} наиболее выраженным была резкая активация *dct-1* и *atg-3* на стадии L2 с последующим снижением части аутофагических компонентов. Такая динамика может соответствовать ранней попытке удалить поврежденные митохондрии, которая при продолжающемся накоплении Ag сменяется истощением или торможением аутофагического ответа. Стадия L2, таким образом, может представлять интерес за счет своей повышенной чувствительности к нарушению металл-зависимых процессов. Представленные результаты демонстрируют, что при обработке $CuCl_2$ решающим признаком *cua-1*^{H828Q} является повреждение митохондрий при сопоставимом общем накоплении Cu, тогда как при обработке НЧС к ней присоединяется выраженное повышение внутриклеточного накопления Ag. Зависимая от стадии развития регуляция *pink-1*/PDR-1/DCT-1 и общего аутофагического аппарата подтверждает, что оценка одного конечного показателя недостаточна. Так, для характеристики металл-индуцированной митохондриальной токсичности необходимо сочетать измерение металлов, функциональную микроскопию и молекулярные маркеры митофагии. Данный подход расширяет возможности модели *C. elegans cua-1*^{H828Q} и позволяет использовать ее для анализа металл-индуцированного повреждения на разных стадиях онтогенеза. Интерпретация транскрипционных данных требует учитывать, что повышение экспрессии генов не тождественно увеличению потока митофагии. Согласованное сочетание снижения TMRE-сигнала, перераспределения мтДНК, накопления Ag и последовательной активации *pink-1*, *dct-1*, *unc-51* и *atg-3* формирует комплексный профиль митохондриального повреждения. Практическое преимущество модели заключается в возможности

одновременно оценивать ранние молекулярные события и фенотипические последствия на уровне целого организма.

Заключение. Мутация H828Q в CUA-1 у нематоды *C. elegans* формирует скрытую недостаточность системы митохондриального контроля качества, которая проявляется при воздействии Cu и Ag. Для Cu характерны усиление окислительного стресса, потеря мембранного потенциала и активация ранних звеньев митофагии без существенного увеличения общего накопления металла по сравнению с N2. Наночастицы серебра вызывают у *cua-1*^{H828Q} аккумулирование Ag в ядерной и митохондриальной фракциях и раннее изменение экспрессии *dct-1* и *atg-3*. Полученные данные обосновывают применение *cua-1*^{H828Q} как *in vivo* модели для изучения связи между нарушением гомеостаза металлов, митохондриальной дисфункцией и митофагией.

Выводы/

1. Нематоды линии *cua-1*^{H828Q}, по сравнению с N2, демонстрируют повышенную чувствительность к экзогенному избытку ионов меди.

2. Нематоды обеих линий проявляют способность аккумулировать серебро НЧС в ядерной и митохондриальной фракциях, однако, нематоды *cua-1*^{H828Q} линии накапливают его примерно в 3 раза больше, чем особи дикого типа.

3. Экспрессия генов митофагии зависит от стадии онтогенеза, генотипа и природы металла.

4. Штамм *cua-1*^{H828Q} может рассматриваться как перспективный для комплексной оценки металл-индуцированной митохондриальной дисфункции и первичного скрининга соединений, индуцирующих митофагию.

Исследование выполнено в рамках государственного задания FGWG-2025-0021

Список литературы:

1. *Ma K., Chen G., Li W., Kepp O., Zhu Y., Chen Q. Mitophagy, mitochondrial homeostasis, and cell fate // Frontiers in Cell and Developmental Biology. 2020. Vol. 8. Art. 467. DOI: 10.3389/fcell.2020.00467.*
2. *Roussos A., Ntritsos G., Chatzigeorgiou A., Tzartos J.S. Caenorhabditis elegans as a model system to study human neurodegenerative disorders // Biomolecules. 2023. Vol. 13, no. 3. Art. 478. DOI: 10.3390/biom13030478.*
3. *Gromadzka G., Tarnacka B., Flaga A., Adamczyk A. Copper dyshomeostasis in neurodegenerative diseases - therapeutic implications // International Journal of Molecular Sciences. 2020. Vol. 21, no. 23. Art. 9259. DOI: 10.3390/ijms21239259.*
4. *Polishchuk E.V., Merolla A., Lichtmannegger J. et al. Activation of autophagy, observed in liver tissues from patients with Wilson disease and from Atp7b-deficient animals, protects hepatocytes from copper-induced apoptosis // Gastroenterology. 2019. Vol. 156, no. 4. P. 1173-1189.e5. DOI: 10.1053/j.gastro.2018.11.032.*
5. *Catalano F., O'Brien T.J., Mekhova A.A. et al. A new Caenorhabditis elegans model to study copper toxicity in Wilson disease // Traffic. 2024. Vol. 25, no. 1. Art. e12920. DOI: 10.1111/tra.12920.*
6. *Palikaras K., Lionaki E., Tavernarakis N. Coordination of mitophagy and mitochondrial biogenesis during ageing in C. elegans // Nature. 2015. Vol. 521. P. 525-528. DOI: 10.1038/nature14300.*

7. *Ahier A., Dai C.Y., Tweedie A., Bezawork-Geleta A., Kirmes I., Zuryn S. PINK1 and parkin shape the organism-wide distribution of mitochondrial ubiquitylation and mitophagy in C. elegans // Cell Reports. 2021. Vol. 35, no. 11. Art. 109203. DOI: 10.1016/j.celrep.2021.109203.*
8. *Meléndez A., Tallóczy Z., Seaman M., Eskelinen E.L., Hall D.H., Levine B. Autophagy genes are essential for dauer development and life-span extension in C. elegans // Science. 2003. Vol. 301, no. 5638. P. 1387-1391. DOI: 10.1126/science.1087782.*
9. *Zhang H., Chang J.T., Guo B. et al. Guidelines for monitoring autophagy in Caenorhabditis elegans // Autophagy. 2015. Vol. 11, no. 1. P. 9-27. DOI: 10.1080/15548627.2014.1003478.*
10. *Narendra D.P., Walker J.E., Youle R. Mitochondrial quality control mediated by PINK1 and Parkin: links to parkinsonism // Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. 2012. Vol. 4, no. 11. Art. a011338. DOI: 10.1101/cshperspect.a011338.*
11. *Palikaras K., Lionaki E., Tavernarakis N. Mechanisms of mitophagy in cellular homeostasis, physiology and pathology // Nature Cell Biology. 2018. Vol. 20. P. 1013-1022. DOI: 10.1038/s41556-018-0176-2.*
12. *Martins A.C., Gonçalves A.C., Alves M.G., Oliveira P.F., Silva B.M. Mitochondria in the spotlight: C. elegans as a model organism to evaluate xenobiotic-induced dysfunction // Cells. 2023. Vol. 12, no. 17. Art. 2124. DOI: 10.3390/cells12172124.*

✶ ✶ ✶

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ *IN SITU* ПОЛНОГЕНОМНОГО УРОВНЯ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК В ИНТЕРФАЗНЫХ ЯДРАХ HEPG2 ПОСЛЕ 72 Ч ВОЗДЕЙСТВИЯ БИСФЕНОЛА А И ХЛОРИДА КАДМИЯ

Сучкова И.О., Дергачева Н.И., Сасина Л.К., Паткин Е.Л., Софронов Г.А.

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Аннотация. *В последние десятилетия активно проводятся исследования взаимосвязи между возникновением заболеваний и воздействием на человека и животных различных поллютанов, в том числе пластификаторов и тяжёлых металлов. Особое внимание уделяется выявлению биомаркеров и установлению молекулярных механизмов их экотоксических эффектов. Бисфенол А и кадмий относят к классу веществ, обладающих эстроген-подобными свойствами, при этом предполагается, что биологические эффекты их острого и хронического воздействия могут быть связаны с нарушениями в эпигенетической регуляции, в частности с изменениями метилирования ДНК, что может обусловливать их долгосрочное влияние на здоровье и качество жизни. Цель работы – сравнить характер влияния бисфенола А и хлорида кадмия на уровень метилирования ДНК в ER-позитивной клеточной линии гепатоцитов человека HepG2. Установлено, что эти экотоксиканты оказывают разное влияние на эпигеном HepG2, при этом интерфазные ядра с наличием и отсутствием крупных хромоцентров по-разному реагирует на их воздействие, что, вероятно, связано с вовлечением разных молекулярных путей и эпигенетических мишеней, чувствительных или резистентных к конкретным дозам бисфенола А и хлорида кадмия.*

Ключевые слова: *экотоксиканты, бисфенол А, хлорид кадмия, метилирование CpG, эпигеном.*

Введение. В настоящее время во всем мире особое внимание уделяется выявлению биомаркеров экотоксических эффектов различных поллютантов, в том числе пластификаторов и тяжёлых металлов, в частности бисфенола А (БФА) и кадмия (Cd2+) [1-4], которые способны накапливаться в организме за счет их биоаккумулятивных свойств и, тем самым, приводить к развитию различных патологий. Печень, почки и нервная система являются одними из основных биологических мишеней БФА [5-7] и Cd2+ [8-10]. БФА и Cd2+ оказывают негативное воздействие на различные биологические процессы, однако молекулярные механизмы такого влияния всё ещё до конца не ясны. Установлено, что эти экотоксиканты обладают эстроген-подобными свойствами, и одним из молекулярных механизмов их воздействия является активации транскрипции эстроген-чувствительных генов с вовлечением рецепторов эстрогенов [11-13]. Кроме того, биологические эффекты острого и хронического воздействия БФА [14-16] и Cd2+ [17-20] на живые организмы могут быть связаны с отклонениями в эпигенетической регуляции (метилирование ДНК, модификации гистонов, некодирующие РНК, компактизация хроматина) активности генов. Эти модификации лабильны и являются чувствительными мишенями, как для прямого, так и опосредованного (продукты мета-

болизма) воздействия различных экотоксикантов на эпигеном живых организмов даже в низких (микро- и наномолярных) концентрациях [21, 22], что может обусловливать их долгосрочное влияние на здоровье и качество жизни. Культуры клеток являются удобной экспериментальной моделью для оценки in vitro токсического действия химических веществ и изучения молекулярных механизмов их негативного воздействия на живые организмы [23-25].

Цель исследования. *С*равнить характер влияния микромолярных доз БФА и $CdCl_2$ на уровень метилирования ДНК в ER-позитивной клеточной линии гепатоцитов человека HepG2.

Материалы и методы. HepG2 приобретена в ЦКП «Коллекция культур клеток позвоночных» Института цитологии РАН [12, 26, 27]. Клетки культивировали в 25 $см^2$-культуральных вентилируемых флаконах в CO_2-инкубаторе в атмосфере 5% CO_2 при 37^0C в течение 24 ч до достижения 25-30% конфлюентности. Затем в опытные образцы добавляли один из экотоксикантов (БФА либо $CdCl_2$) в различных концентрациях и продолжали культивирование еще в течение 72 ч. В качестве растворителя БФА использовали 0,02% ДМСО. Конечные концентрации БФА – 0,25 мкМ, 0,5 мкМ, 1 мкМ, 10 мкМ. Конечные концентрации $CdCl_2$ – 0,5 мкМ, 1 мкМ, 2 мкМ, 5 мкМ, 10 мкМ. Количественную оценку *in situ* полногеномного метилирования CpG динуклеотидов проводили с помощью иммуноцитофлуоресцентной окраски фиксированных (М:ЛУК, 3:1) препаратов интерфазных ядер с использованием антител против 5-meC и вторичных антител DyLight550. Препараты анализировали с использованием флуоресцентного микроскопа AxioScope.A1 («Zeiss»). Флуоресценцию возбуждали лазером с длиной волны 560 нм для антител против 5meC+DyLight550 и с длиной волны 358 нм для DAPI. Для денситометрических измерений интенсивности окраски ядер антителами и DAPI на фотоизображениях использовали программное обеспечение ImageJ. Статистическую обработку данных проводили в программе GraphPad Prism v 8.0.1. Нормальность распределения количественных показателей определяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Сравнение выборок проводили с использованием непараметрических критериев Крускала-Уоллиса, Данна и Манна-Уитни для попарного сравнения. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ с поправкой на множественные сравнения.

Результаты и обсуждение. Проведенный цитогенетический анализ показал, что воздействие как БФА, так и $CdCl_2$ влияет на уровень полногеномного метилирования CpG динуклеотидов в интерфазных ядрах HepG2. При этом после воздействия БФА статистически значимые изменения наблюдали только для дозы 10 мкМ, которая приводила к снижению уровня метилирование CpG ($p < 0,001$) по сравнению с контролем 0,02% ДМСО. В тоже время воздействие $CdCl_2$ снижало метилирование ДНК при дозах 0,5, 1 и 2 мкМ ($p < 0,001$), повышало – при дозе 10 мкМ ($p < 0,001$), и не изменяло его при дозе 5 мкМ. Кроме того, оказалось, что и БФА и $CdCl_2$ влияют на частоту появления ядер с хромоцентрами и уровень полногеномного метилирования CpG в этих вариантах ядер. Так, повышение частоты ядер с хромоцентрами наблюдали после воздействия 0,25 мкМ БФА ($p = 0,006$), 5 мкМ $CdCl_2$ ($p < 0,001$) и 10 мкМ $CdCl_2$ ($p < 0,001$), а снижение частоты– после воздействия 0,5 мкМ $CdCl_2$ ($p = 0,032$). Причем во всех исследованных образцах (в том числе и в контролях) интенсивность флуоресценции DAPI в ядрах с хромоцентрами была выше, чем в ядрах без хромоцентров, тогда как уровень CpG метилирования, наоборот, ниже. При этом в случае воздействия БФА в ядрах без хромоцентров метилирова-

ние CpG было снижено по сравнению с контролем 0,02% ДМСО только при дозе 10 мкМ, тогда как в ядрах с хромоцентрами оно, наоборот, возрастало при всех исследованных дозах ($p < 0,01$). В тоже время воздействие $CdCl_2$ имело другой характер влияния на метилирование CpG в ядрах с наличием и отсутствием хромоцентров. Так, по сравнению с контролем дозы 0,5, 1 и 2 мкМ $CdCl_2$ снижали метилирование ДНК в обоих типах ядер, а доза 10 мкМ, наоборот, его повышала.

В настоящее время многие исследования дают противоречивые результаты о том, как метилирование цитозина определяет гибкость и доступность ДНК, обеспечивает стабильность и динамику нуклеосом, и как при этом происходит формирование эу- и гетерохроматиновых участков [28-30]. ***В основном считается, что метилирование*** CpG ***динуклеотидов связано с*** увеличением степени компактизации ***хроматина и подавлением экспрессии генов*** [30, 31-33]. Хотя есть данные, что метилирование ДНК, наоборот, делает нуклеосомы менее компактными, дестабилизирует их из-за повышенной жесткости метилированных CpG, приводит к усилению раскручивания концов ДНК из гистонового октамера [30].

Поскольку клетки HepG2 являются ER-позитивными, то предполагается, что в одним из молекулярных механизмов воздействия БФА и $CdCl_2$, которые обладают эстроген-подобными свойствами, является активации транскрипции эстроген-чувствительных генов с вовлечением рецепторов эстрогенов: внутриклеточных (ядерных) – ERα и ERβ или мембранных – mERα, mERβ (которые располагаются в кавеолах цитоплазматической мембраны) и GPR30 (GPER), в том числе влияя на активность генов, кодирующих эпигенетические ферменты (ДНК-метилтрансферазы, деметилазы). Однако наблюдаемые различия в эпигеномной реакции HepG2 на БФА и $CdCl_2$, а также на различные дозы этих экотоксикантов, указывают на существование разных молекулярных путей и мишеней, на которые они воздействуют, что требует дальнейших исследований.

Заключение. Воздействие нелетальных микромолярных доз БФА и $CdCl_2$ в течение 72 ч влияет на уровень полногнеомного метилирования CpG в интерфазных ядрах HepG2, при этом оба ксеноэстрогена могут (прямо или косвенно) влиять на формирование хромоцентров и, по-видимому, способны локус/пространственно-специфически изменять метилирование ДНК. Направление и степень выраженности таких изменений зависят от дозы и типа токсиканта. В данном случае, по-видимому, чувствительными к воздействию БФА и $CdCl_2$ являются CpG динуклеотиды локализованные в участках генома, которые отвечаю за формирование крупных хромоцентров (областей гетерохроматинизации).

Выводы. Экотоксиканты БФА и $CdCl_2$ оказывают разное влияние на эпигеном HepG2, при этом интерфазные ядра с наличием и отсутствием крупных хромоцентров по-разному реагирует на их воздействие. Отсутствие линейной зависимости между дозой этотоксиканта и метилированием CpG, вероятно, связано с существованием сложной зависимости между этими сравниваемыми показателями, а также с существованием разных эпигенетических мишеней, реагирующих (чувствительных) на конкретные дозы БФА и $CdCl_2$.

Работа выполнена в рамках Государственного задания № FGWG-2025-0019.

Список литературы:

1. *Ахполова В.О., Брин В.Б. Современные представления о кинетике и патогенезе токсического воздействия тяжелых металлов // Вестник новых медицинских технологий. – 2020. – Т. 27. – № 1. – С. 55-61.*
2. *Макаров Д.А., Балагула Т.В., Лаврухина О.И. и др. Бисфенол А в продуктах питания: пути попадания, содержание, вред для здоровья и ограничительные меры // J. Agricul. Environ. – 2024. – № 12 (52). – С. 1-11.*
3. *Паткин Е.Л., Софронов Г.А. Эпигенетические изменения как общий механизм заболеваний, старения и токсического действия химических веществ. СПб: Эко-Вектор, 2019. 237 с.*
4. *Fowler B.A. Monitoring of human populations for early markers of cadmium toxicity // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2009. – V. 238. – P. 294-300.*
5. *Дергачева Н.И., Паткин Е.Л., Сучкова И.О., Софронов Г.А. Бисфенол А и болезни человека. Механизмы действия // Экологическая генетика. – 2019. – Т. 17. – № 3. – С. 87-98.*
6. *Khan N.G., Tungekar B., Adiga D. et al. Alterations induced by bisphenol A on cellular organelles and potential relevance on human health // Biochim. Bioph. Acta (BBA) - Molecular Cell Research. – 2023. – V.1870. – № 7. – P. 119505.*
7. *Stein T.P. Does bisphenol A (BPA) exposure cause human diseases? // Biomedicines. – 2024. – V. 12. – № 12. – P. 2678.*
8. *Зиатдинова М.М., Якупова Т.Г., Валова Я.В. и др. Анализ экспрессии генов MT2A и MT3 в печени и почках крыс в ответ на отравление хлоридом кадмия // Токсикологический вестник. – 2020. – № 6. – С. 38-43.*
9. *Wang B., Du Y. Cadmium and its neurotoxic effects // Oxid. Med. Cell. Long. 2013. – Article ID 898034, 12 pages.*
10. *Genchi G., Sinicropi M.S., Lauria G. et al. The effects of cadmium toxicity // Int. J. Environ. Res. Public. Health. – 2020. – V. 17. – № 11– P. 3782*
11. *Takiguchi M, Yoshihara S. New aspects of cadmium as endocrine disruptor. Environ Sci. 2006;13(2):107-116.*
12. *Xu B.L., Zhao Q.Z., Gao X.Y., Hou G.J. Effect of estradiol and bisphenol A on human hepatoblastoma cell viability and telomerase activity // Braz. J. Med. Biol. Res. – 2015. – Vol. 48. – P. 1004-1009.*
13. *Cimmino I., Fiory F., Perruolo G. et al. Potential mechanisms of bisphenol A (BPA) contributing to human disease // Int. J. Mol. Sci. – 2020. – V. 21. – № 16. – P. 5761.*
14. *Senyildiz M., Karaman E.F., Bas S.S. et al. Effects of BPA on global DNA methylation and global histone 3 lysine modifications in SH-SY5Y cells: An epigenetic mechanism linking the regulation of chromatin modifiying genes // Toxicol. in vitro. – 2017. – V. 44. – P. 313-321.*
15. *Qin T., Zhang X., Guo T. et al. Epigenetic alteration shaped by the environmental chemical bisphenol A // Front. Genet. – 2021. – V.11. – Article 618966.*
16. *Sugiyama K.I., Kinoshita M., Grúz P. et al. Bisphenol-A reduces DNA methylation after metabolic activation // Genes Environ. – 2022. – Vol. 44. – № 1. – P. 20.*
17. *Takiguchi M., Achanzar W.E., Qu W. et al. Effects of cadmium on DNA-(Cytosine-5) methyltransferase activity and DNA methylation status during cadmium-induced cellular transformation // Exp. Cell Res. – 2003. – V. 286. – № 2. – P. 355-365.*

18. *Huang D., Zhang Y., Qi Y. et al. Global DNA hypomethylation, rather than reactive oxygen species (ROS), a potential facilitator of cadmium-stimulated K562 cell proliferation // Toxicol. Letters. – 2008. – V. 17. – P. 43-47.*
19. *Wang B., Li Y., Shao C. et al. Cadmium and its epigenetic effects // Curr. Med. Chem. – 2012. – V. 19. – № 16. – P. 2611-2620.*
20. *Wang B., Li Y., Tan Y. et al. Low-dose Cd induces hepatic gene hypermethylation, along with the persistent reduction of cell death and increase of cell proliferation in rats and mice // PLoS ONE. – 2012. – V. 7. – № 3. – e33853.*
21. *Агбалян Е.В., Шинкарук Е.В. Характеристика генотоксических и цитотоксических эффектов малых доз кадмия // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2015. – № 6 (часть 3). – С. 427-431.*
22. *Kim S., Mun G.I., Choi E. et al. Submicromolar bisphenol A induces proliferation and DNA damage in human hepatocyte cell lines in vitro and in juvenile rats in vivo // Food Chem. Toxicol. – 2018. – V. 111. – P. 125-132.*
23. *Еропкин М.Ю. Культуры клеток как модельная система в биохимико-токсикологических исследованиях: автореф. дис. на соиск. ученой степени д.б.н. – СПб. – 2004. – 36 с.*
24. *Фрешни Р.Я. Культура животных клеток: практическое руководство / пер. 5-го англ. изд., 3-е изд. (эл.). М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2014. 718 с.*
25. *Su C., Rybalchenko N., Schreihofer D.A., et al. Cell models for the study of sex steroid hormone neurobiology // J. Steroids Horm. Sci. – 2012. – S2. – pii 003.*
26. *Полянская Г.Г., Сакута Г.А., Еропкин М.Ю., и др. Российская коллекция клеточных культур позвоночных (РККК П). Санкт-Петербург, ЦИН РАН. – 2018. – 155 с.*
27. *Shen M., Shi H. Estradiol and estrogen receptor agonists oppose oncogenic actions of leptin in HepG2 cells // PLoS One. – 2016. – V. 11. – P. e0151455*
28. *Kameda T., Suzuki M.M., Awazu A., Togashi Y. Structural dynamics of DNA depending on methylation pattern // Phys. Rev. – 2021. – V. 103. – P. 012404.*
29. *Boyle A.P., Davis S., Shulha, H.P., et al. High-resolution mapping and characterization of open chromatin across the genome // Cell. – 2008. – V. 132. – № 2. – P. 311-322.*
30. *Li S., Peng Y., Panchenko A.R. DNA methylation: Precise modulation of chromatin structure and dynamics // Curr.t Opin. Struct. Biol. – 2022. – V. 75. – P. 102430.*
3. *Trojer P., Reinberg D. Facultative heterochromatin: is there a distinctive molecular signature? // Mol. Cell. – 2007. – V. 28. – P. 1-13.*
32. *Choy J.S., Wei S., Lee J.Y. et al. DNA methylation increases nucleosome compaction and rigidity // J. Am. Chem. Soc. – 2010. – V. 132. – № 6. – P.1782-1783.*
33. *Buitrago, D., Labrador, M., Arcon, J.P. et al. Impact of DNA methylation on 3D genome structure // Nat. Commun. – 2021. – V. 12. – P. 3243.*

* * *

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОТЫ ЛОР-ОРГАНОВ ПРИ ГНОЙНО-СЕПТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ У ДЕТЕЙ

Хаджаева Д.Х., Ахрорходжаев К.А.
Ташкентский государственный медицинский университет,
Profi University, Ташкент, Узбекистан

Аннотация. *Изучено выделения этиологические факторы при гнойно-воспалительных заболеваниях (ГВЗ)* ЛОР органов у детей. Установлено различие в микробиологических показателях при остром и хроническом отите. Отмечена высокая частота выделения ассоциаций микроорганизмов различных таксономических групп, что имеет особое значение при адекватной эмпирической терапии отитов у детей.*

Ключевые слова: *ЛОР органов, отит, острый гнойный средний отит (ОГСО)*, хронический гнойный средний отит (ХГСО)*.*

Введение. Заболевания ЛОР–органов – весьма обширная группа воспалительных заболеваний, каждый человек переносит несколько раз в жизни [2,7]. Среди общего числа лиц с патологией ЛОР-органов ОГСО диагностируется примерно в 30, % случаев. Ключевую роль в этитопатогенезе острого гнойного среднего отита играет переход воспалительного процесса из носоглотки на слизистую оболочку среднего уха опосредованно через глоточное устье слуховой трубы. Эти микроорганизмы постоянно присутствуют в составе назофарингеальной флоры, но свои патогенные свойства, в подавляющем большинстве случаев, они проявляют на фоне острое респираторная вирусная инфекция [3,10].

В эту группу входят гнойно-воспалительные заболевания околоносовых пазух (риносинуситы), глотки и миндалин (тонзиллофарингиты, ангины), и среднего уха (отиты). Значение этих заболеваний определяются их чрезвычайной распространенностью, особенно в детском возрасте [1, 2].

Острый гнойний средний отит – одно из самых распространенных заболеваний детского возраста. Рецидивам острого гнойного среднего отита способствуют анатомо-физиологические особенности, например, наличие аденоидной ткани в носоглотке.

Отит могут вызывать бактериальные и вирусные возбудители, относительная частота обнаружения которых варьирует в зависимости от возраста пациентов и эпидемиологической ситуации [8].

Бактериальная флора при ЛОР-патологии изучалась многими отечественными и зарубежными авторами [3,4, 8, 9]. Этиология среднего отита изменилась за последние 20 лет, его возбудителями являются Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, Moraxella catarrhalis и Streptococcus pyogenes, причём первые два патогена встречаются наиболее часто [4,7].

Цель. Изучение этиологических факторов гнойно-воспалительных заболеваний ЛОР органов у детей**.**

Материалы и методы. 214 детей в возрасте от 1 года до 15 лет заболевшиеся с средним отитом были обследовани клинико-лабораторными и бактериологическими методами, из них 155 с острым (ОГСО) и 59 – с хроническим отитом (ХГСО). Среди обследованных детей мальчиков было – 125 (из них 91 с острым и 64 – с хроническим

отитом), девочек – 89 (из них 64 – с острым и 25 – с хроническим средним отитом). Возрастное деление больных проводили с учетом общепринятых стандартов. В соответствии с этим, возрастные группы были представлены: 1-4 года – ясельный возраст; 5-6 лет – детсадовский возраст; 7-10 лет – дети начального школьного возраста; 8-14 лет – дети среднего школьного возраста (подростковый возраст) и 15 лет и старше – юношеский возраст. По месту жительства больные дети с отитами распределились следующим образом: проживающие в городе – 135 (63,1%) на селе – 79 (36,9%).

Частота и виды сопутствующих заболеваний ЛОР – органов при ОГСО и ХГСО: отмечено 82 случая сопутствующих заболеваний ЛОР-органов внеушной локализации, в том числе риносинусит – 52 (63,4%); пансинусит – 11 (13,4%); гайморит – 13 (15,8%); тонзиллит – 1 (1,2%); воспаление сосцевидного отростка – 1 (1,2%); полипоз – 1 (1,2%).

У девочек из сопутствующих заболеваний ЛОР-органов было отмечено только 3 нозологии – риносинусит, пансинусит и гайморит. У мальчиков было выявлено 8 нозологий. 60 (73,2%) больных с сопутствующими заболеваниями ЛОР-органов проживали в городе, 22 (26,8%) – проживали на селе.

Использовались современные бактериологические методы культивирования. Идентификация аэробных, микроаэрофильных и анаэробных микроорганизмов, относящихся к патогенным, условно-патогенным и сапрофитным группам. Выделенные культуры микроорганизмов идентифицировались комплексом микробиологических культурально - морфологических, тинкториальных, биохимических, серологических методов с применением стандартных методик в соответствии с Bergey's Manual of Systematic Bacteriology и регламентирующих руководств [5, 6, 10].

Полученные результаты и обсуждение. Этеологические агенты, выделенные при острых и средних гнойных отитах показали следующее: при ОГСО было выделено 153 штамма от 155 больных, что составляло 98,7%. При ХГСО от 59 больных выделено 56 штаммов (94,9%).

В возрастном аспекте частота выделения микроорганизмов из патологических материалов было представлено таким образом: от больных детей в возрасте 1-3 года было выделено 49 штаммов, что составило 98%. При ХГСО от 14 больных было выделено 12 (85,7%) штаммов бактерий.

У детей с ОГСО в возрасте 4-6 лет было выделено 36 штаммов, что составило 100% от числа детей этой возрастной группы. При ХГСО этот показатель также составил 100% (14 штаммов от 14 больных). Аналогичные данные по частоте выделения получены и в группе больных детей в возрасте 7-10 лет.

При ОГСО у детей возрастной группы 11-14 лет показатель выделения возбудителя был равен 100% (19 штаммов от 19 больных). При ХГСО в этой же возрастной группе показатель выделения этиологического агента был ниже – 90,9%. В группе больных 15 лет и старше процент выделения микроорганизмов составлял 88,9% и 100% при ОГСО и ХГСО соответственно.

Таким образом, выделение возбудителей при ОГСО и ХГСО было наиболее частым в группе детей 4-6 лет и 7-10 лет (по 100%). Как при ОГСО, так и ХГСО (98% и 85,7%) возбудители реже выделялись от больных в группе 1-3 года.

В результате бактериологического исследования материалов, отделяемого из уха, были отмечены ассоциация микроорганизмов у больных детей с ОГСО. Ассоциации микроорганизмов встречались как двух, так и трех микроорганизмов. Двух микробные ассо-

циации были представлены следующими сочетаниями: Staphylococcus aureus + Moraxella catarralis (7); Staphylococcus epidermidis + Haemophilus influenzae (4); Streptococcus pyogenes + Enterobactericae (3); Klebsiella oxytoca + Staphylococcus aureus (1). Всего 15.

Трех микробные ассоциаций было значительно больше – 31, то есть в 2 раза превалировало двух микробным. Наибольшую клиническую опасность, в плане этиологического и эмпирического лечения, представляют ассоциации типа: 1 - Moraxella catarralis + другие бактерии; 2 - Haemophilus influenzae + другие бактерии; 3 – Streptococcus pneumoniae + Haemophilus influenzae;

4 – анаэробы + Haemophilus influenzae; 5 – анаэробы + Moraxella catarralis; 6 – анаэробы + другие бактерии.

Следует отметить, что во всех выявляемых ассоциациях микроорганизмов были грамположительные кокки - Staphylococcus aureus Staphylococcus epidermidis, Streptococcus pyogenes. Следует обратить внимание на превалирование ассоциации патогенных бактерий над условно – «патогенными».

При ХГСО были также отмечены ассоциации выделяемых микроорганизмов. Ассоциации встречались как двух, так и трех микроорганизмов. Staphylococcus aureus в ассоциации с E. coli и микроскопическими грибами зарегистрированы в 3-х случаях. Staphylococcus aureus с Staphylococcus epidermidis – в 2-х случаях. Ассоциации Staphylococcus saprophyticus с анаэробами и Staphylococcus aureus – в 2-х случаях. Pseudomonas aeruginosae с Staphylococcus epidermidis высевался в 4-х случаях. Трех микробная ассоциация: Klebsiella oxytoca + грибы + Pseudomonas aeruginosae встретилась у 2-х больных. Двух микробная ассоциация: Enterobactericae + Staphylococcus aureus; грибы + Staphylococcus aureus; анаэробы + грибы отмечены в 3, 2 и 5 случаях соответственно.

Заключение. Таким образом, анализ спектра бактерий, выделяемых от больных детей с ОГСО и ХГСО имеет свои характерные особенности: 1 – при ОГСО превалируют грамположительные кокки, при ХГСО появляется Ps.aeruginosa + грибы; 2 – анаэробные бактерии чаще высеиваются при ХГСО; 3 – доля атипичных бактерий выше при ХГСО, чем при ОГСО; 4 – доля грамположительных кокков значительно выше в группе детей 1-3 года как при ОГСО, так и при ХГСО; 5 – при ХГСО отмечается высокий процент выделения ассоциаций микроорганизмов, как двух-, так и трехкомпонентных; 6 – наибольшую клиническую опасность, в плане лечения, представляют ассоциации: а) грибов с другими бактериями; б) аэробов и анаэробов; в) ассоциаций грибов с Pseudomonas aeruginosae; г) ассоциаций грибов с анаэробами.

Выводы.

1. Анализ спектра бактерий изолированных из патологического материала ушей больных детей с ОГСО и ХГСО имеет свои характерные особенности.

2. Выделения возбудителей при ОГСО и ХГСО была наиболее высокой в группе детей 5-6 лет и 7-10 лет (по 100%). Реже возбудители выделялись от больных в группе 1-3 года.

3. Анализа при бактериологическом исследовании отделяемого из уха больных детей с ОГСО и ХГСО встречались микробные ассоциации как двух, так и трех микроорганизмов

4. Наибольшую клиническую опасность, в плане этиологического лечения ОГСО и ХГСО, представляют ассоциации: а) грибов с другими бактериями; б) аэробов и анаэробов; в) ассоциаций грибов с Ps. aeruginosae; г) ассоциаций грибов с анаэробами.

5. Наибольшую клиническую опасность, в плане этиологического лечения, представляют ассоциации : 1 - Moraxella catarralis + другие бактерии; 2 - Haemophilus influenzae + другие бактерии; 3 - Streptococcus pneumoniae + Haemophilus influenzae; 4 – анаэробы + Haemophilus influenzae; 5 – анаэробы + Moraxella catarralis; 6 – анаэробы + другие бактерии.

Список литературы:

1. *Богомильский, М. Р. Детская оториноларингология: учебник для вузов / М. Р. Богомильский, В. И. Чистякова. — 4-е изд., перераб. и доп. — Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2023. — 624 с. (Разделы по этиологии отитов и синуситов).*
2. *Дайхес, Н. А. Оториноларингология: национальное руководство / под ред. Н. А. Дайхеса, Ю. К. Янова. — 2-е изд., перераб. и доп. — Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2024. — Т. 2. — 1024 с.*
3. *Изотова, Г. Н. Микробиологическая характеристика возбудителей острых гнойных средних отитов у детей / Г. Н. Изотова, А. С. Лопатин // Вестник оториноларингологии. — 2022. — Т. 87, № 4. — С. 22–27.*
4. *Карпова, Е. П. Современные подходы к терапии острых риносинуситов у детей: микробный пейзаж и антибиотикорезистентность / Е. П. Карпова // Педиатрия. Журнал им. Г. Н. Сперанского. — 2021. — № 3. — С. 115–120.*
5. *Cazzavillan, A. Bacteriology of acute otitis media and rhinosinusitis in the era of pneumococcal vaccination / A. Cazzavillan, et al. // International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology. — 2023. — Vol. 164. — P. 111–118.*
6. *Humphries, R. Antimicrobial Resistance in Pediatric ENT Infections: A Global Perspective / R. Humphries // Frontiers in Pediatrics. — 2024. — Vol. 12. — Art. 103425.*
7. *Vlastos, I. M. Microbiology of Peritonsillar Abscesses in Children / I. M. Vlastos, et al. // Children (Basel). — 2022. — Vol. 9, № 11. — P. 1720. (Исследование микрофлоры при гнойных абсцессах).*
8. *Toma, A. Microbiome changes in pediatric chronic rhinosinusitis / A. Toma // The Laryngoscope. — 2021. — Vol. 131, № 2. — P. 450–456.*

* * *

МОНИТОРИНГ УРОВНЯ ТЕСТОСТЕРОНА У МУЖЧИН С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИММУНОКОМПЛЕКСНЫХ МЕТОДОВ

Холматов Ш.И.[1], Арипов О.А.[2], Хабибуллоевич М.М.[3]

[1]Международный медицинский университет Центральной Азии, Фергана, Узбекистан,
[2]Центр развития профессиональной квалификации медицинских работников, Ташкент, Узбекистан,
[3]Ферганский филиал Республиканского научного центра экстренной медицинской помощи, Фергана, Узбекистан

Аннотация. *Дефицит тестостерона признается клинико-биохимическим процессом, который у значительной части современного мужского населения остается недифференцированным и в большинстве случаев оставляет без внимания симптоматические или асимптоматические проявления. В связи с этим в данной статье на фоне обсуждения различных степеней дефицита тестостерона запланирован сравнительный анализ наиболее оптимальных иммунокомплексных методов лабораторной диагностики.*

Ключевые слова: *иммунохемилюминесцентный анализ (ИХЛА), иммуноферментный анализ (ИФА), дефицит тестостерона, иммунокомплекс, свободный тестостерон, андропауза, гипогонадизм, либидо, лютеинизирующий гормон, фолликулостимулирующий гормон, 5-альфа-редуктаза, дигидротестостерон.*

Введение. Дефицит или снижение секреции тестостерона также фиксируется как возрастное состояние: снижения секреции тестостерона до 10% у мужчин в возрасте около 30 лет и до 40% у мужчин в возрасте около 70 лет регистрируются как андропауза или гипогонадизм [1]. В настоящее время доказано, что дефицит тестостерона оказывает негативное влияние на ряд физиологических процессов в мужском организме. К ним относятся снижение полового либидо, эректильная дисфункция, общее энергетическое состояние организма, настроение, когнитивный статус нервной системы, мышечная масса, степень плотности костной ткани и накопление избыточных жировых молекул [3].

Тем не менее дефицит тестостерона до сих пор остается без должного внимания как широко распространенное состояние. Пациенты с изменениями, вызванными дефицитом тестостерона, должны проходить гормональную коррекцию с осторожностью под наблюдением терапевтов, эндокринологов и урологов. Вопросы контроля и точного определения уровня тестостерона в терапевтическом или диагностическом процессе также рассматриваются как еще одна проблема, находящаяся в центре внимания.

Механизм возникновения дефицита тестостерона. Чтобы сформировать полную картину состояния дефицита тестостерона, нам необходимо прежде всего ознакомиться с ролью тестостерона в биохимических и физиологических процессах, а также с процессами его синтеза. 90% тестостерона в организме человека синтезируется клетками Лейдига в семенниках под управлением гормонов ЛГ и ФСГ гипофиза на основе стимуляции гонадотропин-рилизинг гормоном (ГнРГ) гипоталамуса. Если учесть, что фолликулостимулирующий гормон участвует в сперматогенезе, связываясь с клетками

Сертоли, то для процессов синтеза и секреции тестостерона большее значение имеет лютеинизирующий гормон. Оставшиеся 10% секретируются надпочечниками.

В процессе обмена веществ тестостерон переходит в форму дигидротестостерона и эстрадиола, оказывая обратное ингибирующее действие на гипофиз. Тестостерон проявляет свое эффективное действие путем связывания с андрогеновыми рецепторами.

В некоторых случаях тестостерон и дигидротестостерон являются про- и активными гормонами. По своему биологическому эффекту скорость связывания с андрогеновыми рецепторами у дигидротестостерона обладает в несколько раз более высокой активностью по сравнению с тестостероном. Превращение тестостерона в дигидротестостерон катализируется ферментом 5-альфа-редуктазой. В организме человека встречаются две формы фермента альфа-редуктазы в различных частях тела. Первая форма, каталитическая скорость которой не зависит от андрогенов, расположена в печени, коже и головном мозге. Вторая форма расположена в предстательной железе и канальцах семенников [10].

В плазме крови тестостерон встречается в двух формах: связанной и несвязанной (свободной). В большинстве случаев до 97–98% концентрации тестостерона находится в связанном с белками плазмы состоянии. При этом глобулин, связывающий половые гормоны (ГСПГ), образует прочный комплекс с тестостероном, вследствие чего не оказывает никакого регуляторного эффекта. Определенная часть свободного тестостерона образует слабую связь с белком альбумином, а оставшаяся часть циркулирует в кровотоке в свободной форме и представляет собой основную действующую концентрацию гормона.

Изменение уровня тестостерона в плазме крови. Определение уровня тестостерона находится под влиянием ряда физиологических и внешних факторов. Для получения максимального эффекта на преаналитическом этапе образец крови у пациента должен браться в утренние часы — от 8 до 10 утра. На секрецию тестостерона могут влиять вариации даже в течение суток (заход солнца) и в середине дней недели [4-5-6]. Острые заболевания и другие виды изменений создают различные препятствия для определения реальной концентрации. На аналитическом этапе необходимо выбрать наиболее оптимальные методы анализа для определения уровня тестостерона и правильно проанализировать их специфичность, чувствительность, надежность и экономическую эффективность.

Уровень тестостерона снижается в зависимости от возраста на 1% в год после определенного возраста; возрастные изменения не ограничиваются только снижением секреции — глобулины, связывающие половые гормоны и связывающие основную концентрацию тестостерона, с возрастом также достигают более высоких концентраций. В результате этого мы можем наблюдать еще большее ослабление биологической активности свободного тестостерона [8]. По критерию оценки дефицита гормона тестостерона не установлено четкой нижней или верхней границы, однако средняя концентрация гормона тестостерона в плазме крови менее 15 нмоль/л клинически прямо связывается с дефицитом тестостерона.

Материалы и методы. С целью функциональной оценки гормонального дисбаланса, связанного с дефицитом тестостерона, а также для проведения сравнительного анализа двух типов иммунокомплексных методов, которые могут быть использованы в

данном процессе, и выбора наиболее оптимального из них, с помощью методов ИХЛА (CLIA) и ИФА (ELISA) одновременно были отобраны образцы крови 87 мужчин экспериментальной группы и 10 мужчин интактной группы в возрасте 25–35 лет, не имеющих сопутствующих заболеваний. Образцы анализировались с соблюдением всех правил преаналитического, аналитического и постаналитического контроля качества.

Для иммуноферментного метода использовался набор «Свободный-Тестостерон-ИФА» компании ХЕМА. В качестве анализатора применялся прибор MR-96A фирмы Mindray.

Иммунохемилюминесцентный метод: на анализаторе Maglumi X3 фирмы Snibe с использованием CLIA Testosterone (100t). Температура хранения реагентов составляла 2–8 °C. Сыворотки крови, полученные для образцов с первичными показателями 12–20 нг/мл, разводили 0,9% физиологическим раствором NaCl при комнатной температуре 25 °C в соотношениях 1:2, 1:5, 1:10 и 1:20.

Результаты и обсуждение.

Таблица 1.

	Исходная концентрация	**:2**	**1:5**	**1:10**	**1:20**	**Норма**
Экспериментальная группа ИХЛА	33,2 ± 0,3 пг/мл	22,2 ± 0,3 пг/мл	15,2 ± 0,3 пг/мл	10,2 ± 0,3 пг/мл	7,2 ± 0,3 пг/мл	4,5 – 42,0 пг/мл
Экспериментальная группа ИФА	16,4 ± 0,3 нг/мл	12,2 ± 0,2 нмоль/л	9,1 ± 0,2 нмоль/л	2,2 ± 0,3 нмоль/л	0,2 ± 0,3 нмоль/л	2,36 – 38 нмоль/л

При обсуждении результатов на основе Таблицы 1: если начальная средняя концентрация свободного (free) тестостерона в 87 образцах составляла 17,2 ± 0,3 нг/мл и 16,4 ± 0,3 нг/мл для методов ИХЛА и ИФА соответственно, то при последовательном разведении в соотношениях 1:10 и 1:20 в методе ИХЛА уровень гормона тестостерона не опускался ниже нижней границы. В методе же ИФА именно при соотношениях разведения 1:10 и 1:20 были зафиксированы ложноотрицательные результаты.

Заключение. На основании сравнительного анализа чувствительности нижнего предела иммунокомплексных методов при мониторинге гормона тестостерона можно прийти к следующему выводу: если начальная концентрация свободного тестостерона в сыворотке крови составляла 33,2 ± 0,3 пг/мл (ИХЛА) и 16,4 ± 0,3 нг/мл (ИФА), то при доведении соотношений разведения до 1:10 и 1:20 анализатор ИХЛА достоверно сохранял положительный результат концентрации гормона в биоматериалах, зафиксировав показатели 7,2 ± 0,3 пг/мл и 4,5–42,0 пг/мл соответственно. Однако при использовании метода ИФА при аналогичном разведении были зарегистрированы ложноотрицательные результаты. Одним словом, метод ИХЛА превосходит анализатор ИФА по чувствительности к концентрации гормона в биоматериале и служит наиболее оптимальным выбором для последующих клинических и биологических исследований.

Список литературы:

1. *Bhasin, S., Brito, J. P., Cunningham, G. R., et al. (2018). Testosterone Therapy in Men With Hypogonadism: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 103(5), 1715–1744.*
2. *Wu, F. C. W., Tajar, A., Beynon, J. M., et al. (2010). Identification of Late-Onset Hypogonadism in Middle-Aged and Elderly Men. The New England Journal of Medicine, 363(2), 123–135.*
3. *Morgentaler, A., Zitzmann, M., Traish, A. M., et al. (2016). Fundamental Concepts Regarding Testosterone Deficiency and Treatment: International Expert Consensus Resolutions. Mayo Clinic Proceedings, 91(7), 881–896.*
4. *Brambilla, D. J., Matsumoto, A. M., Araujo, A. B., & McKinlay, J. B. (2007). The effect of diurnal variation on clinical measurement of serum testosterone and other sex hormone levels in men. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 92(3), 853–858.*
5. *Diver, M. J., Imtiaz, K. E., Ahmad, A. M., et al. (2003). Diurnal rhythmicity and other sources of variation in serum testosterone concentrations in healthy middle-aged men. Clinical Endocrinology, 58(6), 710–716.*
6. *Plaza-Diaz, J., Perez-Ferreirós, A., & Gil, A. (2020). Pre-analytical and analytical considerations in testosterone measurement: Methodological approaches. Journal of Clinical Medicine, 9(4), 1120.*
7. *Spratt, D. I., O'Dea, L. S., Schoenfeld, D., et al. (1988). Neuroendocrine responses to physiological concentrations of testosterone in men. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism, 254(5), E658–E666.*
8. *Kiprovski, M., & Tsiotra, P. (2019). Age-related decline in serum free testosterone and the role of Sex Hormone-Binding Globulin (SHBG). Steroids, 148, 45–52.*
9. *Rosner, W., Auchus, R. J., Azziz, R., et al. (2007). Position statement: Utility, limitations, and pitfalls in measuring testosterone: An Endocrine Society position statement. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 92(2), 405–413.*
10. *Russell, D. W., & Wilson, J. D. (1994). Steroid 5α-reductase: Two genes/two enzymes. Annual Review of Biochemistry, 63(1), 25–61.*

✶ ✶ ✶

ВНЕЭРИТРОЦИТАРНЫЙ ГЕМОГЛОБИН: ЭФФЕКТ ЗАВИСИТ ОТ ДОЗЫ

Хомякова Т.И.[1,2], Розиев Р.А.[2], Гончарова А.Я.[2], Хомяков Ю.Н.[3], Маланчева Е.В.[2]

[1]Российский научный центр хирургии им.акад.Б.В. Петровского, Москва,
[2]НИЦ ПАМ, Обнинск,
[3]Московский университет «Синергия», Москва

Аннотация. *Целью историко-научного обзора было создание картины эволюции представлений о физиологической и патофизиологической роли гемоглобина, охватывающий период с конца XIX века по настоящее время от первых клинических описаний гемолитических анемий до формирования современной молекулярной парадигмы.*

В работе систематизированы ключевые открытия в области биохимии гемоглобина, отдельное внимание уделено переосмыслению роли гемоглобина: от исключительно транспортного белка к «опасному» фактору (DAMP-молекуле), запускающему воспаление через активацию TLR4-рецептора гемом.

В обзоре также рассмотрены механизмы токсичности свободного гемоглобина и многоуровневая система детоксикации гема. Особый акцент сделан на смене парадигмы в XXI веке: обнаружении парадоксальных положительных эффектов низкодозового полимеризованного гемоглобина (вазодилатация, противовоспалительное действие), что подтверждает дозозависимый характер действия вещества и иллюстрирует принцип Парацельса. Авторы заключают, что накопленные факты требуют пересмотра догматических представлений и открывают новые перспективы для терапевтического использования гемоглобина в низких дозах (препарат Крунидон®).

Ключевые слова: *гемолиз; внеклеточный гемоглобин; полигемоглобин; индуцируемая гемоксигеназа-1; монооксид углерода, биливердин.*

Введение. Эффекты, развивающиеся при поступлении гемоглобина из погибающих клеток при системном разрушении эритроцитов в организме (гемолиза) и механизмов действия гемоглобина охватывает более полутора веков. Долгий путь от первых клинических описаний до понимания сложных молекулярных механизмов привел к формированию парадигмы мышления, доминирующей в современной медицине. Ключевые этапы этого пути хронологически представлены на схеме (Рисунок 1)

Цель. Анализ эволюции представлений о понимании роли гемоглобина в жизнедеятильности организма, исследовании и механизмов гемолиза и патогенеза заболеваний, ассоциированных с гемолизом, а также изучения механизмов утилизации внеэритроцитарного гемоглобина.

Самые ранние клинические наблюдения (конец XIX века) можно отнести к 1871 году, когда C.F. Vanlair и J.B. Masius сообщили о первом случае гемолитической анемии с описанием симптомов желтухи и анемии. В работе «Microcythœmia; a Morbid Condition of the Blood hitherto undescribed» они представили концепцию «микроци-

темии» («la microcythémie») для описания обнаруженных в крови маленьких клеток (микроцитов). Их наблюдение считается первым описанным случаем наследственного сфероцитоза — одной из форм наследственной гемолитической анемии [1].



Рис.1.
Схема развития представлений о механизмах действия гемоглобина

В 1888 году Уильям Хантер (William Hunter) впервые использовал термин «гемолитический» («haemolytic») для описания анемии, вызванной чрезмерным разрушением крови, но введение самого термина «гемолитическая анемия» в широкий оборот относится к 1901 году, когда началось систематического изучения гемолиза, вызванного различными факторами: физическими (замораживание, нагрев), химическими (кислоты, щелочи) и действием сывороток крови.

В 1898 году исследования Belfanti и Carbone показали, что сыворотка животных, иммунизированных эритроцитами, приобретает специфическую гемолитическую активность, что привело к пониманию того, что гемолиз может быть вызван как внешними факторами (например, гемолизинами в сыворотке), так и внутренними дефектами самих эритроцитов [2]. Так, в 1911 году A. A. Hijmans van den Bergh показал, что гемолиз при пароксизмальной ночной гемоглобинурии (ПНГ) связан с дефектом структуры эритроцитов. В статье он описал повышенную чувствительность эритроцитов при ПНГ к гемолизу в кислой сыворотке. Это наблюдение стало основой для кислотного теста Хэма (Ham test), долгое время служившего главным диагностическим методом этой патологии [3]. В 1904 году Donath и Landsteiner описали пароксизмальную холодную гемоглобинурию, которая позже была признана первым примером аутоиммунного заболевания [4].

Примерно в то же время было установлено, что гемоглобин это не пигмент крови, как считалось ранее, а сложный белок, состоящий из белка и гема, функция которого состоит в переносе кислорода и связывании его в легких и передаче в тканях. XX век ознаменовался открытием механизмов действия гемоглобина. В период с 1904 по 1951 годы были открыты эффект Бора — Крога-Хассельбаха (влияние pH и CO_2 на сродство гемоглобина к кислороду) [5] и эффект Кристиансена-Дугласа-Холдейна (влияние оксигенации на связывание CO_2) . Открытие 1904 года продемонстрировало, что увеличение парциального давления углекислого газа (CO_2) снижает сродство гемоглобина к кислороду, смещая кривую диссоциации оксигемоглобина вправо, в 1914 году было доказано, что этот эффект в

основном обусловлен изменением pH, вызванным CO_2 , деоксигенированная кровь обладает большей способностью связывать углекислый газ (CO_2), чем оксигенированная, что облегчает захват CO_2 в тканях и его высвобождение в лёгких [6].

В 1910 году А.В. Хилл (A.V. Hill) предлагает свое знаменитое уравнение для описания кооперативного связывания кислорода гемоглобином. Адаир (Adair) и Сведберг (Svedberg) независимо друг от друга показали, что молекула содержит четыре гема, и гипотеза промежуточного соединения Адаира с четырьмя соответствующим образом выбранными константами связывания могла формально объяснить кооперативное связывание. Л.Паулинг (Pauling L.) предложил простую модель, включающую только две константы, которая хорошо соответствовала имеющимся данным. Исследования Хауровица показали, что кристаллическая структура изменяется при оксигенации (1938), дала первые доказательства, четко указывающие на изменение конформации; В 1951 году Уайман и Аллен (Wyman& Allen) развили эту идею в термодинамических терминах, а кристаллографические исследования Перуца (Perutz) выявили природу изменений, связанных со связыванием лиганда. Стало известно, что важные гетеротропные взаимодействия, влияющие на связывание кислорода, обязательно сопровождающиеся взаимными взаимодействиями между связыванием кислорода и поглощением гетеротропных лигандов, бывают трех видов: 1) связывание протона «группами Бора», 2) прямое связывание CO2 в виде карбамата и 3) связывание органических фосфатных анионов, таких как дифосфоглицерат. Последнее из них, хотя и столь же важное, как и первые два, было обнаружено лишь спустя около полувека после ранних работ. Среди основных первооткрывателей в разгадке этих сложных взаимосвязей были Д. Д. Ван Слайк(D. D. Van Slyke), Ф. Дж. У. Рафтон (F. J. W. Roughton), Линус Полинг (Linus Pauling), Дж. Уайман (J. Wyman), а позже Рут и Рейнхольд Бенеш (Ruth&Reinhold Benesch) Л. Росси-Бернарди (L. Rossi-Bernardi) и Дж. В. Килмартин (J. V. Kilmartin). Все эти и многие другие факторы способствовали нашему пониманию как гомотропных, так и гетеротропных взаимодействий в процессе связывания и переноса кислорода гемоглобином [7].

В 1937-1938 годы был опубликован ряд ключевых работ по механизмам гемолиза (Ham, Dacie, Israëls, Wilkinson), вследствии чего в понимании специалистов, гемоглобин из основного белка, обеспечивающего жизнеспособность организма становится повреждающим фактором, отнесенным позже к ключевым DAMPs (молекулы, ассоциированные с повреждением, Damage-Associated Molecular Patterns) [8]. Концепция гемоглобина (и его производных) как молекулы, ассоциированной с повреждением (DAMP), которая запускает воспаление через Toll-подобный рецептор 4 (TLR4), строится на том, что основным активным компонентом развития воспалительных реакций является гем (простетическая группа гемоглобина), а не сам гемоглобин.

Исследование Figueiredo и соавт. в 2007 году, показало, что гем, но не его аналоги/предшественники, активирует TLR4. индуцирует секрецию фактора некроза опухоли-α (ФНО-α) макрофагами после связывания с Толл-подобным рецептором 4 типа (TLR4) по сигнальному пути MyD88, и CD14. В этой работе было показано, что активация TLR4 гемом является чрезвычайно строгой, требуя стереометрически координированного иона железа и винильных групп порфиринового кольца, причем сигнальный путь гема от TLR4 зависел от взаимодействия, отличного от взаимодействия между TLR4 и липополисахаридом (ЛПС), поскольку антитела к TLR4/MD2 или антагонист липида А ингибировали ЛПС-индуцированную секрецию ФНО-α, но не активность гема. Напротив,

протопорфирин IX выступил в качестве антагониста гема, не влияя на активацию, вызванную ЛПС. Более того, гем индуцировал продукцию TNF-α и кератиноцитного хемокина, но был неэффективен для индукции секреции интерлейкина-6, интерлейкина-12 и интерферон-индуцируемого белка-10 или экспрессии костимулирующих молекул. Эти результаты подтвердили концепцию, согласно которой широкая лигандная специфичность TLR4 и различные профили активации могут частично объясняться его способностью распознавать разные лиганды в разных сайтах связывания. Это стало основой для понимания провоспалительных эффектов гема [8].

Этими же авторами было показано, что гем индуцировал окислительный взрыв, рекрутирование нейтрофилов и экспрессию гемоксигеназы-1 независимо от TLR4. Эти реакции были изучены значительно позже и будут рассмотрены в разделах ниже.

Изучение механизмов детоксикации эндогенного свободного гемоглобина на молекулярно-клеточном уровне началось с 1938 года, когда Полоновски и Жайлем (Polonovski & Jayle) открыли гаптоглобин— белок плазмы, который связывает свободный гемоглобин, предотвращая его токсическое действие [10]. Во второй половине XX века исследования были направлены на изучение роли селезенки и ретикулоэндотелиальной системы (РЭС) в удалении поврежденных эритроцитов и продуктов их распада [11]

В 1968-1969 годах Тенхунен (Tenhunen) открыл фермента гем-оксигеназу, который катализирует распад гема до биливердина, железа и угарного газа (CO).В последующие два десятилетия росло убеждение , что свободный гемоглобин и, особенно, высвобождаемый из гемоглобина гем, обладают прооксидантной активностью и могут вызывать повреждение тканей, эндотелия и почек через различные механизмы, включая связывание оксида азота (NO) и инициацию перекисного окисления липидов [12].

В доминирующем представлении врачей появление внеэритроцитарного гемоглобина в крвеносном русле всегда бывает вызвано с патологическим разрушением эритроцитов и вследствие распада на гем и белковую часть происходит повреждение организма.

Токсическое действие такого гемоглобина, быстро распадающегося на димеры, обусловлено двумя ключевыми свойствами этого белка. Прежде всего, это связывание оксида азота (NO). NO — это критически важная сигнальная молекула, которая заставляет гладкие мышцы сосудов расслабляться, предотвращая спазм. Итогом становится вазоконстрикция, приводящая к локальной ишемии и кислородному голоданию тканей, легочная гипертензия и активация тромбоцитов и адгезия лейкоцитов, что способствует тромбообразованию. Кроме того, при массивном гемолизе высвободившееся двухвалентное железо включает цепную реакцию образования агрессивных свободных радикалов с повреждением клеток сосудов эндотелия, активацией системы комплемента, а также распад гема с высвобождением иона Fe^{2+}, который катализирует образование еще большего количества радикалов. Однако, все не так трагично, как это можно представить: организм обладает многоуровневой системой «обезвреживания» гемоглобина, эффективной при умеренном количестве обнаруженного гемоглобина или его компонента -гема, который связывается с TLR4 рецептором.

Прежде всего, свободный гемоглобин прочно связывается с гаптоглобином (Hp), который осуществляет его транспорт к рецептору CD163 макрофага/моноцита, где реализуется процесс эндоцитоза — поглощения комплекса клеткой. Внутри макрофага

гемоглобин расщепляется, а потенциально токсичный гем разрушается ферментом гемоксигеназой-1 (НО-1) , который производит биливердин и монооксид углерода. При большой дозе попавшего в кровеносное русло гемогобина запасы гаптоглобина быстро истощаются, уровень CD163 в критических условиях может падать в 5–10 раз, а активность гемоксигеназы также подавляется. В итоге оставшийся «свободным» гемоглобин свободно проходит через почечный фильтр, активно повреждая канальцы и вызывая острую почечную недостаточность [14].

Как известно, смена парадигмы мышления происходит в тот момент, когда господствующая теория не может дать объяснения накопившимся фактам. В последние 20 лет XXI века благодаря развитию новых подходов развилось направление исследований газотрансмиттеров NO, CO H3S

Было обнаружено, что в пределах реализации адаптивных способностей организма (при внутривенном введении небольших доз полимеризованного гемоглобина) наблюдаются эффекты, противоположные описанным выше: на уровне сосудистых реакций развивается вазодилятация, в крови увеличивается уровень противовоспалительных цитокинов, происходит улучшение состояния ишемизированных органов и организма в целом. Эти результаты были изучены как в эксперименте, так и в клинике. Реализация противовоспалительной активности низкодозового полигемоглобина после связывания с CD163 осуществляется через активацию гемоксигеназы 1 с образованием биливердина и монооксида азота. Дальнейшие эффекты продуктов распада гема рассмотрены в ряде обзорных статей, из которых можно порекомендовать обзоры Cesare Mancuso (2023) посвященный роли биливердина как регуляторного соединения [15], и Abramov AY et al (2024), в котором рассматривается место монооксида углерода в сложной системе поддержания гомеостаза.

В серии доклинических и клинических исследований, проведенных разработчиками полигемоглобина как лекарственного средства Крунидон® было установлено, что при инфузионном капельном введении препарата в низких дозах (от 2 до 8 г) происходит расширение сосудов, обеспечивающее ряд положительных эффектов за счет мобилизации крови из депо [17], увеличивается объем циркулирующей крови [18]. При этом действие на свертывающую систему противоположно эффектам, развивающимся при повышении в крови уровня внеэритроцитарного гемоглобина вследствие гемолиза: свертываемость крови снижается, отмечается увеличение АЧТВ и МНО.

Заключение. Таким образом, история исследования эффектов внеклеточного гемоглобина позволила понять механизмы повреждающего действия на клеточном и тканевом уровн. Однако, несмотря на то, что весь ход научных исследований двух столетий привел к формированию строгой теории о роли гемоглобина как переносчика кислорода, когда он находится в эритроцитах и токсичного соединения, которое вызывает повреждение при гемолизе, в настоящее время мы должны принять необходимость смены парадигмы, и это подтверждает истинность древнего высказывания Парацельса: «Всё есть яд, и ничто не лишено ядовитости; одна лишь доза делает яд незаметным». Никакое утверждение в медицинской науке не должен рассматриваться как аксиома. Наличие феномена, объяснение которому не находится в рамках существующих представлений, должно вызывать интерес и дальнейшие исследования, а не отвержение.

Список литературы:

1. *Vanlair C. & Masius J.B.Microcythæmia; a Morbid Condition of the Blood hitherto undescribed . Journal of Cell Science. . 1872. s2-12 (47).- 296–300 https://doi.org/10.1242/jcs.S2-12.47.296*
2. *Hadjopoulos LG. The nature of specific hemolysins and standard method of preparing antisheep hemolysin. Arch Intern Med (Chic). 1921;27(4):441–448. doi:10.1001/archinte.1921.00100100057005*
3. *Omine M, Kinoshita T, Nakakuma H, Maciejewski JP, Parker CJ, Socié G. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Int J Hematol. 2005 Dec;82(5):417-21. doi: 10.1532/IJH97.05140. PMID: 16533745.*
4. *Commentary on and reprint of Donath J, Landsteiner K, Ueber paroxysmale Häemoglobinurie [Concerning paroxysmal hemoglobinuria], in Muenchener Medizinische Wochenschrift (1904) 51:1590–1593,Editor(s): Marshall A. Lichtman, Jerry L. Spivak, Laurence A. Boxer, Sanford J. Shattil, Edward S. Henderson,Hematology,AcademicPress,2000,Pages21-30,ISBN9780124485105,https://doi.org/10.1016/B978-012448510-5.50098-4.*
5. *Imai, K. (2002). Bohr Effect. In Encyclopedia of Molecular Biology, (Ed.). https://doi.org/10.1002/047120918X.emb0177*
6. *Malte H, Lykkeboe G. The Bohr/Haldane effect: a model-based uncovering of the full extent of its impact on O2 delivery to and CO2 removal from tissues. J Appl Physiol. 2018 May 10;125(3):916-922. doi: 10.1152/japplphysiol.00140.2018.*
7. *Edsall JT. Hemoglobin and the origins of the concept of allosterism. Fed Proc. 1980 Feb;39(2):226-35. PMID: 6986293.*
8. *Figueiredo RT, Fernandez PL, Mourao-Sa DS, Porto BN, Dutra FF, Alves LS, Oliveira MF, Oliveira PL, Graça-Souza AV, Bozza MT. Characterization of heme as activator of Toll-like receptor 4. J Biol Chem. 2007 Jul 13;282(28):20221-9. doi: 10.1074/jbc.M610737200. Epub 2007 May 14. PMID: 17502383.*
9. *Lin H, Xiong W, Fu L, Yi J, Yang J. Damage-associated molecular patterns (DAMPs) in diseases: implications for therapy. Mol Biomed. 2025 Aug 29;6(1):60. doi: 10.1186/s43556-025-00305-3. PMID: 40877572; PMCID: PMC12394712.*
10. *Polonovski M. Influence de la globine plasmatique sur l'indice d'haptoglobinémie [Influence of plasma globin on the haptoglobin index]. Sang. 1945;16(7):496-8. French. PMID: 21014443.*
11. *Mebius RE, Kraal G. Structure and function of the spleen. Nat Rev Immunol. 2005 Aug;5(8):606-16. doi: 10.1038/nri1669. PMID: 16056254.*
12. *Vinchi F, Vance SZ. Reshaping Erythrophagocytosis and Iron Recycling by Reticuloendothelial Macrophages. Hemasphere. 2021 Jan 20;5(2):e525. doi: 10.1097/HS9.0000000000000525. PMID: 33490878; PMCID: PMC7819702.*
13. *Tenhunen R, Marver HS, Schmid R. Microsomal heme oxygenase. Characterization of the enzyme. J Biol Chem. 1969 Dec 10;244(23):6388-94. PMID: 4390967.*
14. *Schaaf KR, Landstreet SR, Pugazenthi S, Qian EY, Putz ND, Siderova T, Owen AM, Bohannon JK, Ware LB, Bastarache JA, Shaver CM. Cell-free hemoglobin triggers macrophage cytokine production via TLR4 and MyD88. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2024 Jan 1;326(1):L29-L38. doi: 10.1152/ajplung.00123.2023. Epub 2023 Nov 22. PMID: 37991487; PMCID: PMC11279742.*

15. *Mancuso C. Biliverdin as a disease-modifying agent: An integrated viewpoint. Free Radic Biol Med. 2023 Oct;207:133-143. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2023.07.015. Epub 2023 Jul 15. PMID: 37459935.*
16. *Abramov AY, Myers I, Angelova PR. Carbon Monoxide: A Pleiotropic Redox Regulator of Life and Death. Antioxidants (Basel). 2024 Sep 16;13(9):1121. doi: 10.3390/antiox13091121. PMID: 39334780; PMCID: PMC11428877.*
17. *Патент № 2811253 C2 Российская Федерация, МПК A61M 5/00, A61K 38/42, A61P 7/00. Применение гемоглобина полимеризованного для мобилизации крови из депо при кровопотерях : № 2021124656 : заявл. 19.08.2021 : опубл. 11.01.2024 / Р. А. Земляной, К. Т. Еримбетов, Е. В. Бондаренко [и др.] ; заявитель Публичное акционерное общество Завод экологической техники и экопитания «ДИОД». – EDN SKFNIX.*
18. *Патент № 2861484 C1 Российская Федерация, МПК A61K 38/42, C07K 14/805, A61K 9/08. Средство для инфузии, восстанавливающее объем циркулирующей крови при кровопотерях у животных : заявл. 11.11.2025 : опубл. 05.05.2026 / Т. И. Хомякова, Р. А. Розиев, А. Я. Гончарова, Е. Е. Калашникова ; заявитель Общество с ограниченной ответственностью "НеоГемовет". – EDN OCPNPW.*

✶ ✶ ✶

РОЛЬ КОМОРБИДНОСТИ И ПОЛИПРАГАЗИИ В РАЗВИТИИ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ АНЕВРИЗМАТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ АОРТЫ

Хомякова Т.И.[1,2], Мхитаров В.А.[1], Хомяков Ю.Н.[2]

[1]Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В.Петровского,
[2]Московский университет «Синергия»,
Москва

Аннотация. *В последние годы все большее внимание исследователей привлекают не только классические факторы риска, но и такие комплексные характеристики пациентов, как коморбидность и полипрагмазия, роль которых в прогнозировании исходов операций недостаточно изучена. Цель. Изучить влияние коморбидности и полипрагмазии на частоту развития послеоперационных осложнений у пациентов, перенесших реконструктивные вмешательства по поводу аневризм аорты. Материалы и методы. Проведен ретроспективный анализ данных 51 пациента мужского пола в возрасте от 19 до 75 лет, оперированных в период с мая 2023 по май 2025 года. Оценка коморбидности выполнялась с использованием индекса Чарлсона (CCI) , полипрагмазия верифицировалась при приеме пяти и более лекарственных препаратов. Результаты. В группе с воспалительными осложнениями (n=16) медиана CCI составила 4,5 (IQR 3–6) против 2,0 (IQR 1–4) в группе благоприятного течения (p=0,028). Полипрагмазия выявлена у 43,8% пациентов с осложнениями и у 17,1% без осложнений (p=0,031). Заключение. Коморбидность и полипрагмазия являются независимыми предикторами развития воспалительных послеоперационных осложнений при хирургии аневризм аорты. Включение данных параметров в предоперационную оценку риска позволяет улучшить стратификацию пациентов и оптимизировать тактику периоперационного ведения.*

Ключевые слова: *аневризма аорты, коморбидность, полипрагмазия, индекс Чарлсона, послеоперационные осложнения, кардиохирургия.*

Введение. Хирургическое лечение аневризм грудного и торакоабдоминального отделов аорты сопряжено с высоким риском развития жизнеугрожающих осложнений. Коморбидность выступает в роли одного из ключевых модифицируемых и немодифицируемых факторов, предопределяющих риск развития послеоперационных осложнений. Исследования подтверждают прямую корреляцию между количеством и тяжестью коморбидных состояний и частотой послеоперационных событий [1]. Для объективной оценки влияния коморбидности на исходы операций широко применяются интегрированные шкалы риска. Индекс коморбидности Чарлсона (Charlson Comorbidity Index, CCI) продемонстрировал прогностическую ценность в кардиохирургии. В исследовании 186 пациентов, перенесших сочетанное вмешательство на митральном клапане и восходящей аорте, пятилетняя выживаемость в группе с CCI ≤ 5 составила 95,9%, тогда как при индексе > 5 — только 59,7% . Повышение CCI на каждую единицу ассоциировалось с увеличением риска поздней летальности почти в 1,6 раза [2]. Следствием возрастного расширения спектра коморбидности становится полипрагмазия, которая также рассматривается как фактор риска развития послеоперационных осложнений.

Под полипрагмазией понимают одновременный приём пациентом пяти и более лекарственных препаратов, под гиперполипрагмазией — назначение десяти и более средств. Многочисленные исследования подтверждают прогностическую роль полипрагмазии в развитии послеоперационных осложнений как самостоятельного предиктора послеоперационного функционального снижения, улучшающего стратификацию риска на дооперационном этапе [3]. При этом факт приёма большого количества препаратов сам по себе служит маркером исходной тяжести состояния пациента, и, кроме того, создаёт дополнительные риски, связанные с лекарственными взаимодействиями, кумулятивными эффектами и снижением комплаентности.

Цель исследования. Провести ретроспективный сравнительный анализ структуры коморбидности и количества используемых пациентами лекарственных препаратов в группах с благоприятным течением послеоперационного периода и с осложнениями.

Материалы и методы. В работе проанализированы данные ретроспективного исследования пациентов в возрастном диапазоне от 19 до 75 лет, находившиеся на лечении в кардиохирургическом отделении ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского» (г. Москва), которые перенесли плановое реконструктивное оперативное вмешательство. Исследования были одобрены локальным этическим комитетом учреждения (выписка из протокола №4 от 20.04.2023). Отбор участников проводился при соблюдении двух обязательных условий: письменное информированное согласие пациента на участие в научной работе и принадлежность к мужскому полу. Всего в итоговую выборку вошел 51 человек мужского пола в возрасте 58 (43,0-66,) лет,с массой тела 87,0 (78,0;100) кг. Статистически достоверных различий по массе тела и возрасту между группами выявлено не было. Оценка коморбидного спектра включала определение CCI с использованием калькулятора он-лайн. Распределение пациентов по типам аневризм выполнялось в строгом соответствии с клиническими протоколами, актуализированными Министерством здравоохранения РФ в 2025 году. Все оперативные вмешательства проводились одной бригадой хирургов и анестезиологов в первой половине дня (с 9 до 13 часов). На этапе анализа послеоперационного периода все пациенты были стратифицированы на две категории. В первую когорту (I, n=16) вошли случаи, течение которых осложнилось развитием местных признаков воспалительного осложнения. Вторую группу (II, n=35) сформировали пациенты, у которых реабилитационный этап проходил без осложнений и характеризовался благоприятной динамикой.

Результаты и обсуждение. При анализе частоты встречаемости различных типов аневризмы по классификации аневризм было установлено, что у пациентов, включенных в исследование, доминировали аневризма или дилятация восходящего отдела аорты изолированно (9,8%), в сочетании с аневризмой только корня (15,7%), только дуги (41,2%), корня и дуги (5,9%). Аневризмы нисходящего отдела и торакоабдоминального отдела аорты встречались в исследуемой группе пациентов значительно реже, - как изолированно (2%), так и в сочетании с аневризмой дуги (3,9%). Сложнокомбинированные случаи аневризмы восходящего отдела, дуги и нисходящего отдела отмечались в двух случаях (3,9%), распространенная аневризма корня, восходящего и нисходящего отдела аорты также диагностирована в двух случаях (3,9%). В одном случае была проведена операция по поводу ложной аневризмы травматического характера. Расслоение аорты имело место в 8/51 (15,7%) случаев. По частоте встречаемости типов аневризмы между группами достоверных различий не было.

Индекс коморбидности Чарлсона в целом по популяции составил 2,0(1,0;3,0). В группе I он был несколько ниже, чем в группе II, составляя 2,0 (1,0; 3,0) и 1,5 (0,0; 4,0), соответственно, но статистически значимых различий выявлено не было (p=0,431). Согласно существующим рекомендациям [3], у пациентов с 2—5 баллами по ИКЧ можно предположить высокую выживаемость/низкий риск смерти, низкой выживаемости соответствует ИКЧ более 5 баллов. Несмотря на отсутствие выраженных статистически значимых различий, доля пациентов с ИКЧ выше 5 составила 18,8% и 8,5% в группах с осложнениями и без осложнений, соответственно, что позволяет говорить о прогностической ценности этого показателя в комплексе с другими параметрами для индивидуальной оценки выживаемости пациента в послеоперационном периоде.

В качестве фоновой патологии наиболее часто встречались нарушения ритма и проводимости: 8 из 16 случаев (50%) в группе I с осложнениями, 7 из 35 (20%) случаев в группе II. Частота хронической сердечной недостаточности в анамнезе была сходной: 4 из 16 (25%) случаях в группе I и в 9 из 35 (26%) случаях в группе II. Однако при этом у 2х из 4 пациентов группы I имела место сниженная до 38% и 44% фракция выброса левого желудочка, в то время как у всех пациентов группы II фракция выброса была сохраненной или незначительно сниженной. Гипертоническая болезнь или артериальная гипертензия (Риск ССО 3-4) были в анамнезе 9 из 16 (56%) человек группы I и 17 из 35 (48,6%) человек группы II. По одному человеку из обеих групп (6,3% и 2,9%, соответственно) имели легочную гипертензию. Варикозная болезнь, а также другие сосудистые нарушения, обусловленные соединительнотканной дисфункцией, которые являются патогенетически значимым звеном в развитии аневризмы аорты, встречаются в сравниваемых группах примерно с равной частотой. Невоспалительные заболевания почек (киста, нефролитиаз, нефросклероз, гемангиомы) и хроническая болезнь почек встречались 6 из 16 (38%) случаях в группе I и в 13 из 35 (37%) группы II. Патологии печени и желчевыводящих путей имели место в 7из 16 (44%) случаев группы I и 9 из 35(26%) случаев в группе группе II. Практически у всех пациентов обеих групп в качестве сопутствующих заболеваний в анамнезе имелись заболевания желудка и/или пищевода. вероятно, в связи с постоянным приемом лекарственных препаратов, вызывающих эти побочные явления. Очаги хронической инфекции отмечены в истории болезни в 3 из 16 (19%) случаях в группе I и 2 из 35 (5,7%) случаях в группе II, что свидетельствует о более высоком предсуществующем риске развития инфекционно-воспалительных осложнений у пациентов группы I.

Для контроля давления, снижения темпов прогрессии аневризмы аорты и лечения сопутствующих и фоновых заболеваний пациенты обеих сравниваемых групп принимали от 1 до 6 препаратов на постоянной основе. Не принимали никаких препаратов 1 из 16 (6,25%) и 4 из 35 (11,43%) пациентов I и II групп, соответственно. Частота использования препаратов различных фармакологических групп приведена ниже.

Степень полипрагмазии при поступлении в стационар была статистически значимо выше в группе I (p=0,032): количество применяемых препаратов составляло 3,5 (2,0-5,0) по сравнению с 2,0 (1,0-3,0), что согласуется с данными литературы о роли полипрагмазии как самостоятельного фактора риска развития осложнений.

Заключение. Коморбидность является мощным и многоаспектным фактором, определяющим риск развития послеоперационных осложнений при хирургии аневризм аорты. Наличие сахарного диабета, ишемической болезни сердца, хронической обструк-

Таблица 1.

Частота применения фармакологических групп препаратов при поступлении в стационар

Фармакологическая группа	Группа I (с ИВО) N=16	Группа II (без ИВО) N=35
Статины (n, %)	6 (37,50)	7 (20,0)
Антагонисты рецепторов ангиотензина II (n, %)	5 (31,25)	10 (28,57)
Ингибиторы протонного насоса, антациды (n, %)	7 (43,8)	1 (2,86)
Альфа- и бета-адреноблокаторы (n, %)	4 (25)	9 (25,71)
Блокаторы кальциевых каналов (n, %)	4 (25)	11 (31,43)
Диуретики (n, %)	4 (25)	7 (20)
Антиагреганты и антикоагулянты (n, %)	2 (12,50)	6 (17,14)
Гипогликемические средства (n, %)	2 (12,50)	1 (2,86)
Ингибиторы АПФ(n, %)	1 (6,25)	8 (22,86)
Ненаркотические анальгетики, включая НПВС(n, %)	1 (6,25)	3 (8,57)
Сердечные гликозиды	1 (6,25)	0

тивной болезни легких и почечной недостаточности существенно повышает вероятность неблагоприятных исходов. Использование валидированных шкал позволяет стратифицировать пациентов по степени риска и оптимизировать тактику периоперационного ведения. Полипрагмазия является мощным и независимым фактором риска развития осложнений в хирургии, особенно у пожилых и коморбидных пациентов. Включение этого параметра в модифицированные индексы хрупкости позволяет улучшить стратификацию риска до операции и выделить группу пациентов, требующих особого внимания. Неблагоприятные исходы ассоциированы преимущественно с числом некардиоваскулярных препаратов, что указывает на необходимость комплексной ревизии всей лекарственной терапии на этапе предоперационной подготовки. Дальнейшие исследования должны быть направлены на разработку клинических алгоритмов оптимизации фармакотерапии у пациентов с полипрагмазией и на разработку комплексных стратегий, учитывающих не только количество коморбидных состояний, но и характер их взаимного влияния на системный воспалительный ответ и процессы регенерации перед плановыми оперативными вмешательствами.

Источники финансирования. Работа выполнена в рамках реализации государственного задания FURG 2026-0033

Конфликт интересов. Авторы заявляют о равном вкладе в работу и об отсутствии конфликта интересов любого характера.

Список литературы:

1. *Chen JR, Pritting C, Shah VN, King C, McGee J, Plestis KA. Impact of aetiology on short- and long-term outcomes in open descending and thoracoabdominal aneurysm repair. Interdiscip Cardiovasc Thorac Surg. 2024 Dec 3;39(6):ivae203. doi: 10.1093/icvts/ivae203. PMID: 39657241; PMCID: PMC11730275.*
2. *Rahouma M, Khairallah S, Lau C, Al Zghari T, Girardi L, Mick S. The impact of comorbidities on outcomes of concomitant mitral valve intervention with ascending aortic surgery. Int J Cardiol. 2024 Oct 15;413:132398. doi: 10.1016/j.ijcard.2024.132398. Epub 2024 Jul 26. PMID: 39069093.*
3. *Kearney L, Ord M, Buxton B, Matalanis G, Patel S, Burrell L, Srivastava P. Usefulness of the Charlson co-morbidity index to predict outcomes in patients >60 years old with aortic stenosis during 18 years of follow-up. Am J Cardiol. 2012 Sep 1;110(5):695-701. doi: 10.1016/j.amjcard.2012.04.054. Epub 2012 May 25. PMID: 22632826.*

✶ ✶ ✶

ИССЛЕДОВАНИЕ СИСТЕМЫ КИССПЕПТИНОВОГО СИГНАЛИНГА. УСПЕХИ И ЗАТРУДНЕНИЯ

Хохлов П.П., Блаженко А.А., Комлев А.С., Зайцева П.Е.
Институт экспериментальной медицины,
Санкт-Петербург

Актуальность. Система кисспептинового сигналинга привлекает внимание исследователей как с точки зрения фундаментальных наук – физиологии, биохимии, физико-химической биологии, так и отраслей прикладного медицинского характера – эндокринологии, неврологии, репродуктологии [1, 2]. Внимание к этой система межклеточного сигналинга для фундаментальных областей связано с рядом уникальных особенностей строения и функционирования системы на молекулярном, клеточном и системном уровнях [2 - 4]. Наряду с уникальными особенностями с кисспептиновой системой связаны некоторые факты, объяснение которых на настоящем этапе затруднено и может вступать в противоречие с общепринятыми представлениями [4, 5].

Материал и методы. Исходным материалом послужили современные информационные источники, существующие в открытом доступе. Основными источниками послужили медицинские поисковые системы PubMed и PubMed Central. Также использовали ряд вспомогательных систем поиска.

Результаты и обсуждение. Количество публикаций касательно кисспептинового сигналинга с каждым годом только увеличивается и растет в геометрической прогрессии [1, 3]. При этом существует ряд вопросов, относительно которых среди исследователей кисспептинов не существует единого мнения [4 - 6]. Ряд актуальных, на наш взгляд, моментов просто не обсуждается. Пока нет окончательного единого мнения о положении кисспептинов в системе классификации пептидов. Подавляющее большинство авторов придерживаются мнения о принадлежности кисспептинов к RF-amide семейству. [2, 5]. Мнение основано на том, что С-конец пептидов кисспептинов человека имеет RF-amide строение. Считают, что именно эта группировка ответственна за связывание с узнающим рецептором группу С-белок сопряженных рецепторов. С формальной точки зрения вопрос осложняется тем, что у лабораторных мышевидных грызунов – мышей и крыс – на С-конце фенилаланин заменен на тирозин и, соответственно С-конец имеет строениеRY-amide. Эту замену объясняют точечной мутацией в одной паре нуклеотидов, где произошла замена триплетUUUна триплет UAU. По всей вероятности, такая точечная замена не влияет на биологические свойства молекулы. Схожая замена имеет место у ряда костистых рыб, где существуют два паралогичных гена *kiss*, при этом одна изоформа пептида имеет RF-amide строение, а другая RY-amide. В тоже время некоторые авторы отнесли пептид кисспептин к нейропептидам группы галанина [1].

Специфической особенностью кисспептиновой системы также присутствие нескольких биологически активных пептидов, которые представляют собой продукт экспрессии одного структурног7о гена, по крайней мере, это справедливо для человека и плацентарных млекопитающих [7]. Это явление не обусловлено альтернативным сплайсингом мРНК, а представляет собой результат нескольких вариантов сайт-специфичного гидролиза (посттрансляционного процессинга) первичного транслята [8]. Первичный транслят гена *kiss* у человека составляет 145 аминокислотных остатков (ао). Согласно

многочисленным исследованиям, такой первичный транслят не обладает биологической активностью, то есть не реагирует со специфичным рецептором [9, 10]. В ходе посттрансляционного процессинга от транслята отцепляется нефункциональный N-конец, а С-конец подвергается амидированию. У человека отмечены биологически активные пептиды размером 54, 14, 13 и 10 ао. Пептиды обозначаются, соответственно, как KISS54, KISS14, KISS13и KISS10 [2, 5, 11]. Согласно данным большинства авторов, каждый из указанных пептидов способен связываться со специфическим селективным рецептором KISSR и обладает биологической активностью. Однако в информационных источниках нет данных о том, насколько различается в биохимическом и физиологическом плане действие различных изоформ кисспептина. Из общих соображений, дедуктивно, что более короткие пептиды обладают более высокой проницаемостью биомембран и ГЭБ и биодоступностью. Но последнее предположение еще требует экспериментальных доказательств. Также отсутствуют сравнительные данные о взаимодействии разных пептидов с селективным рецептором и сравнение констант связывания.

Другим важным свойством системы кисспептинового сигналинга является его плейотропность. Множественные биохимические эффекты взаимодействия пептидных лигандов с рецепторами связаны, прежде всего, с присутствием kissri kissr в многочисленных органах и тканях организма человека и модельных животных.

В последние годы основное внимание фундаментальных исследователей и прикладников обращено на экстрагипоталамическую активность кисспептинового сигналинга. Отмечено резкое возрастание концентрации пептида в кровотоке беременных женщин [12 - 15], выявлены компоненты системы кисспептинов в поожелудочной железе, семенниках мужчин и самцов и яичниках женщин и самок [13 - 15].Однако, физиологические и молекулярные механизмы кисспептинового сигналинга остаются на сегодняшний день малоисследованными.

Выводы. Система кисспептинового сигналинга, которая включает семейство пептидных лигандов и группу селективных рецепторов, представляет собой универсальный механизм межклетоынх коммуникаций у человека и позвоночных животных. С позиций молекулярной генетики система крайне консервативна и имеет единое монофилетическое происхождение среди позвоночных животных. В организме человека и животных система представлена рядом локальных подсистема, которые реализуют местные и системы регуляторные механизмы. Наиболее важной и хорошо изученной подсистемой считают регуляцию кисспептн-продуцирующих нейронов ядер гипоталамуса. Последние данные говорят об интегративной функции кисспептин-продуцирующих нейронов гипоталамуса. Нейроны аккумулируют многочисленные сигналы нейропептидов мозга, стероидных и пептидных гормонов и получают информацию об энергетическом статусе всего организма.

Относительно автономной сигнальной системой следует считать механизм кисспептинового сигналинга при беременности, где сигнальные пептиды имеют плацентаное происхождение. Исследование последней системы особенно важно в плане использования пептидов кисспептинов для диагностики и терапии патологических состояний беременности.

Список литературы:

1. *Rønnekleiv OK, Qiu J, Kelly MJ.Hypothalamic Kisspeptin Neurons and the Control of Homeostasis.// Endocrinology. 2022 Feb 1;163(2):bqab253. doi: 10.1210/endocr/bqab253.*
2. *Converse A., Genuise H., Bennett T.L., Butler R.M., Thomas P. The membrane androgen receptor ZIP9 maintains ovarian homeostasis by mediating post-ovulatory follicle breakdown in zebrafish // General and Comparative Endocrinology. 2023. Vol. 340. P. 114323.*
3. *Iwata K, Kunimura Y, Ozawa H.Hypothalamic Kisspeptin Expression in Hyperandrogenic Female Rats and Aging Rats.// Acta HistochemCytochem. 2019 Oct 29;52(5):85-91. doi: 10.1267/ahc.19013. Zhang S., et al. The masculinization steroid milieu caused by fluorene-9-bisphenol disrupts sex-typical courtship behavior in female zebrafish // Ecotoxicology and Environmental Safety. 2022. Vol. 247. P. 114245.*
4. *Lents CA. 77 Review: kisspeptin and reproduction in the pig.Animal. 2019 Dec;13(12):2986-2999. doi: 10.1017/S1751731119001666.*
5. *Stevenson H, Bartram S, Charalambides MM, Murthy S, Petitt T, Pradeep A, Vineall O, Abaraonye I, Lancaster A, Koysombat K, Patel B, Abbara A. Kisspeptin-neuron control of LH pulsatility and ovulation. // Front Endocrinol (Lausanne). 2022 Nov 21;13:951938. doi: 10.3389/fendo.2022.951938.*
6. *Hu KL, Zhao H, Chang HM, Yu Y, QiaoJ.Kisspeptin/Kisspeptin Receptor System in the Ovary 77 Front Endocrinol (Lausanne). 2018 Jan 4;8:365. doi: 10.3389/fendo.2017.00365.*
7. *Lee EB, Dilower I, Marsh CA, Wolfe MW, Masumi S, Upadhyaya S, Rumi MAK. Sexual Dimorphism in Kisspeptin Signaling.Cells. 2022 Mar 28;11(7):1146. doi: 10.3390/cells11071146.*
8. *Trevisan CM, Montagna E, de Oliveira R, Christofolini DM, Barbosa CP, Crandall KA, Bianco B.Kisspeptin/GPR54 System: What Do We Know About Its Role in Human Reproduc tion?CellPhysiolBiochem. 2018;49(4):1259-1276. doi: 10.1159/000493406. Epub 2018 Sep 11.*
9. *..*
10. *Hellier V, Brock O, Bakker J.The Role of Kisspeptin in Sexual Behavio // Semin Reprod Med. 2019 Mar;37(2):84-92. doi: 10.1055/s-0039-3400992. 17.*
11. *Mills EGA, Dhillo WS, ComninosAN.Kisspeptin and the control of emotions, mood and reproductive behaviour.// J Endocrinol. 2018 Oct 1;239(1):R1–R12. doi: 10.1530/JOE-18-0269.*
12. *Siddiqui S, Mateen S, Ahmad R, Moin S.A brief insight into the etiology, genetics, and immunology of polycystic ovarian syndrome (PCOS).// J Assist Reprod Genet. 2022 Nov;39(11):2439-2473. doi: 10.1007/s10815-022-02625-7. Epub 2022 Oct 3.*
13. *Xie Q, Kang Y, Zhang C, Xie Y, Wang C, Liu J, Yu C, Zhao H, Huang D.The Role of Kisspeptin in the Control of the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis and Reproduction.// Front Endocrinol (Lausanne). 2022 Jun 28;13:925206. doi: 10.3389/fendo.2022.925206.*
14. *Meczekalski B, Niwczyk O, Bala G, Szeliga A.Stress, kisspeptin, and functional hypothalamic amenorrhea.// CurrOpinPharmacol. 2022 Dec;67:102288. doi: 10.1016/j.coph.2022.102288. Epub 2022 Sep 11.*
15. *Navarro VM.Metabolic regulation of kisspeptin - the link between energy balance and reproduction. // Nat Rev Endocrinol. 2020 Aug;16(8):407-420. doi: 10.1038/s41574-020-0363.*

ИЗМЕНЕНИЕ ПОЛНОГЕНОМНОГО УРОВНЯ ГИСТОНА H3K9ME3 НА СТАДИИ МОРУЛЫ И БЛАСТОЦИСТЫ МЫШЕЙ ПОСЛЕ 72 И 96 ЧАСОВ ВОЗДЕЙСТВИЯ БИСФЕНОЛА А И АПО-ЛАКТОФЕРРИНА ЧЕЛОВЕКА

Челышева Л.А., Ниниашвили Е.М., Сучкова И.О., Паткин Е.Л.
Институт экспериментальной медицины,
Санкт-Петербург

Аннотация. *Бисфенол А (БФА) – экотоксикант, способный нарушать эпигенетические механизмы на ранних этапах эмбриогенеза. Актуален поиск агентов, способных модулировать эпигеном и ослаблять негативные эффекты БФА. Лактоферрин – гликопротеин с широким спектром биологических активностей может являться одним из потенциальных эпигеномных модуляторов. Цель – проверить гипотезу о влиянии БФА и экзогенного апо-лактоферрина на уровень репрессивной модификации гистона H3K9me3 у доимплантационных эмбрионов мыши, культивированных в условиях in vitro в присутствии БФА, апо-лактоферрина человека (apo-rhLF) либо их смеси. Уровень H3K9me3 определяли методом иммуноцитофлуоресцентного окрашивания ядер бластомеров на стадии морулы и бластоцисты. Выявили, что воздействие БФА и apo-rhLF на полногеномный уровень H3K9me3 носит стадия-зависимый характер, причем БФА и apo-rhLF оказывают противоположный эффект. Сочетанное действие БФА и apo-rhLF нормализует уровень H3K9me3, приводя его к контрольным значениям на стадиях морулы и бластоцисты.*

Ключевые слова: *бисфенол А, апо-лактоферрин, доимплантационное развитие, метилирование гистонов*

Введение. Эпидемиологические и экспериментальные данные показывают, что бисфенол А (БФА) действует как эндокринный разрушитель широкого спектра, формируя «метаболическую среду», благоприятную для развития заболеваний на всем протяжении онтогенеза [1]. Установлено, что БФА даже в низких дозах нарушает сигнальные пути, вызывая структурные изменения клетки, стресс органелл, митохондриальную дисфункцию, повреждение ДНК, образование свободных радикалов и клеточную токсичность [2]. БФА действует одновременно как эндокринно-активное соединение и как агент, влияющий на эпигенетические модификации (метилирование ДНК и модификации гистонов). Эти механизмы не исключают друг друга, однако эпигенетические эффекты БФА изучены недостаточно [3]. Поскольку белки эстрогенного пути могут влиять на эпигенетические модификации в генах-мишенях, можно предположить, что БФА реализуется через аналогичные эпигенетические пути. Действительно, этот ксеноэстроген способен изменять эпигеномный статус клеток, влияя на метилирование ДНК и/или модификации гистонов, что приводит к нарушениям активности генов [4].

Повышение риска хронических заболеваний связано с воздействием неблагоприятных факторов на ранних этапах онтогенеза, особенно в доимплантационный период. Установлена связь между пренатальным воздействием химических соединений и формированием патологий во взрослом возрасте. Одним из молекулярных механизмов такой связи являются эпигенетические нарушения [5]. На каждом этапе раннего эмбриогенеза

ключевую роль играют эпигенетические механизмы [6], обеспечивающие переход от тотипотентной зиготы к многоклеточному организму за счет активации транскрипционных сетей, отвечающих за дифференцировку и поддержание клеточной идентичности. Активное и неактивное состояние генов зиготического генома регулируется ремоделированием хроматина, опосредованным метилированием ДНК, модификациями гистонов и некодирующими РНК.

Эпигеном отличается повышенной лабильностью в критические периоды онтогенеза, причем наибольшая уязвимость наблюдается в эмбриогенезе, когда происходят ключевые процессы перепрограммирования гистоновых модификаций. Первые 24 ч после оплодотворения наиболее критичны, поскольку в этот период происходит эпигеномное перепрограммирование родительских геномов. На стадиях морулы и бластоцисты завершается основная волна эпигенетического перепрограммирования и формируется потенциал дальнейшего развития и имплантации эмбриона [7]. Переход от морулы к бластоцисте сопровождается интенсивной пролиферацией, компактизацией и началом клеточной дифференцировки, при которой бластомеры детерминируются для образования внутренней клеточной массы или трофэктодермы, что делает эти стадии высокочувствительными к воздействиям агентов, способных влиять на эпигенетические механизмы, включая БФА.

В связи с этим актуален поиск веществ, способных модулировать эпигеном в раннем эмбриогенезе для коррекции эффектов БФА. Одним из таких соединений является лактоферрин – гликопротеин с широким спектром активностей. Он присутствует в женских репродуктивных путях, участвует в регуляции клеточного роста и дифференцировки, стабилизирует факторы гипоксии и активирует сигнальные пути. Выступая как транскрипционный фактор, лактоферрин может модулировать экспрессию генов и влиять на эпигеном, что позволяет рассматривать его как потенциальный эпигенетический регулятор в раннем эмбриогенезе [8,9,10].

Цель исследования. Провести количественную оценку *in situ* полногеномного уровня H3K9me3 у доимплантационных эмбрионов мышей на стадиях морулы и бластоцисты в норме, а также после воздействия БФА, рекомбинантного апо-лактоферрина человека (apo-rhLF) и их сочетанного действия в условиях культивирования *in vitro*.

Материалы и методы. Исследование проводили на половозрелых самках мышей-гибридов F1 (C57BL × CBA) в соответствии с требованиями, утвержденными Локальным этическим комитетом ФГБНУ «ИЭМ». Зиготы были получены путем гормональной стимуляции суперовуляции по протоколу, описанному ранее [11]. Были сформированы 5 групп: 1) «Контроль-интактный» ($К_{инт}$) – культивирование в среде M16; 2) «Контроль-EtOH» ($К_{EtOH}$) – культивирование в среде M16 с 0,1% этанолом в качестве растворителя БФА; 3) «БФА» – культивирование в среде M16 с 50 мкМ БФА; 4) «ЛФ» – культивирование в среде M16 с 50 мкг/мл рекомбинантного апо-лактоферрина человека (apo-rhLF); 5) «БФА+ЛФ» – культивирование в среде M16 с 50 мкМ БФА и 50 мкг/мл apo-rhLF. Эмбрионы культивировали под силиконовым маслом в атмосфере 5% CO_2 при 37°C в течение 72 и 96 ч. Уровень гистона H3K9me3 определяли методом иммуноцитофлуоресцентного окрашивания ядер бластомеров с использованием антител, специфичных к H3K9me3. Анализ препаратов и получение изображений проводили на флуоресцентном микроскопе AxioScope.A1 (Zeiss). Обработку изображений и денситометрический анализ выполняли в программе ImageJ. Статистическую обработку проводили в прогрем-

ме GraphPad Prism v. 10.4.0. Нормальность распределения количественных показателей определяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Сравнение выборок проводили с использованием непараметрических критериев Крускала-Уоллиса, Данна и Манна-Уитни для попарного сравнения. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ с поправкой на множественные сравнения.

Результаты и обсуждение. Установлено, что по сравнению с контрольными группами ($К_{инт}$ и $К_{EtOH}$) воздействие БФА в течение 72 ч и 96 ч повысило уровень гистона H3K9me3 в ядрах бластомеров на стадии морулы и бластоцисты, соответственно ($p < 0,001$). Тогда как при культивировании эмбрионов в присутствии только apo-rhLF, а также при совместном воздействии БФА и apo-rhLF не выявили статистически значимых изменений на этих стадиях доимплантационного развития. Предполагается, что рекомбинантный апо-лактоферрин способен дифференциально изменять уровень H3K9me3 в локусах-мишенях для БФА, приводя их постепенно к условной норме и «стабилизируя» к стадии бластоцисты, т.е. к моменту окончанием первичной дифференцировки клеток и установления устойчивых гетерохроматиновых доменов. Следует отметить, что H3K9me3 участвует в переходах между состояниями хроматина и тесно ассоциирован с формированием конститутивного гетерохроматина и репрессией генов. В период доимплантационного развития эта модификация подвергается значительному ремоделированию, создавая хроматиновую среду, необходимую для клеточного репрограммирования и поддержания пластичности [12,13].

Заключение. Полученные результаты указывают на то, что кратковременное воздействие (в течение 72 и 96 ч) ксеноэстрогена БФА и рекомбинантного апо-лактоферрина человека, а также их сочетанное действие влияют на полногеномный уровень H3K9me3, причем характер изменений зависит от стадии доимплантационного развития эмбрионов мыши. Рекомбинантный апо-лактоферрин человека может рассматриваться в качестве потенциального агента для эпигеномной терапии и профилактики негативных последствий воздействия БФА на эмбрионы в преимплантационный период эмбрионального развития.

Выводы. Рекомбинантный апо-лактоферрин человека нивелирует негативный эффект бисфенола А на уровне метилирования гистонов на стадии морулы и бластоцисты в ранний доимплантационный период эмбриогенеза.

Работа выполнена в рамках Государственного задания FGWG-2025-0019.

Список литературы:

1. *Stein T. P. Does bisphenol A (BPA) exposure cause human diseases? // Biomedicines. – 2024. – Т. 12, № 12. – С. 2678.*
2. *Khan N. G., Tungekar B., Adiga D., Chakrabarty S., Rai P. S., Kabekkodu S. P. Alterations induced by Bisphenol A on cellular organelles and potential relevance on human health // Biochim Biophys Acta Mol Cell Res. – 2023. – Т. 1870, № 7. – С. 119505.*
3. *Camacho L., Pogribny I. P. Epigenetic effects of bisphenol A (BPA): A literature review in the context of human dietary exposure. In: Patel V., Preedy V. (eds) Handbook of Nutrition, Diet, and Epigenetics. Springer, Cham, 2017.*

4. *Faulk C., Kim J. H., Jones T. R., McEachin R. C., Nahar M. S., Dolinoy D. C., Sartor M. A. Bisphenol A-associated alterations in genome-wide DNA methylation and gene expression patterns reveal sequence-dependent and non-monotonic effects in human fetal liver // Environ Epigenet. – 2015. – Т. 1, № 1. – С. dvv006.*
5. *Паткин Е. Л., Софронов Г. А. Эколого-зависимые заболевания человека. Эпигенетические механизмы возникновения и наследования // Медицинский академический журнал. – 2015. – Т. 15, № 3. – С. 7-23.*
6. *Bozdemir N., Kablan T., Biyikli E., Cinar O., Uysal F. A comprehensive review of histone modifications during mammalian oogenesis and early embryo development // Histochem Cell Biol. – 2025. – Т. 163, № 1. – С. 70.*
7. *Du Z., Zhang K., Xie W. Epigenetic Reprogramming in Early Animal Development // Cold Spring Harb Perspect Biol.–2022;–Т.14, № 6. – С. a039677.*
8. *Postnikova, L. A., Patkin, E. L. The possible effect of lactoferrin on the epigenetic characteristics of early mammalian embryos exposed to bisphenol A // Birth defects research. – 2022. – Т. 10, № 1. – С. 1002.*
9. *Сучкова И. О., Шарруф К. А., Сасина Л. К., Дергачева Н. И., Баранова Т. В., Паткин Е. Л. Апо-форма рекомбинантного лактоферрина человека изменяет уровень полногеномного метилирования ДНК и степень компактизации хроматина в клеточной линии нейробластомы IMR-32 // Медицинский академический журнал. – 2022. – Т. 22, № 4. – С. 77-96.*
10. *Postnikova L.A, Noniashvili E.M, Suchkova I.O, Baranova T.V, Patkin E.L. The influence of exogenic lactoferrin on DNA methylation in postimplantation mouse embryos developed from zygotes exposed to bisphenol A // Medical Academic Journal. – 2022. – Т. 22, № 4. – С. 45-56.*
11. *Нониашвили Е.М., Грудинина Н.А., Кустова М.Е., и др. Метилирование ДНК в раннем эмбриогенезе мышей под влиянием бисфенола А // Экологическая генетика. – 2017. – Т. 15. – № 3. – С. 42–53.*
12. *Deng M., Chen B., Liu Z., Cai Y., Wan Y., Zhou J., Wang F. Exchanges of histone methylation and variants during mouse zygotic genome activation // Zygote. – 2020. – Т. 28, № 1. – С. 51-58.*
13. *Zeng J., Tu X., Qu S., Chen X., Wang Y., Liu X., Kang E., Tian Y., Xiang Q., Lai B., Gao W., Ni B., He W. Nucleosome organization of mouse embryos during pre-implantation development // Sci Rep. – 2025. – Т. 15, № 1. – С. 21894.*

* * *

СИНТЕЗ И МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ДОКИНГ ИЗОМЕРНЫХ ГИБРИДОВ 4,6-ДИМОРФОЛИНО-1,3,5-ТРИАЗИНА И НИТРОБЕНЗИМИДАЗОЛА КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ БИТАРГЕТНЫХ ИНГИБИТОРОВ PI3K И PARP1

Чернов И.С., Эрхитуева Е.Б., Протас А.В., Попова Е.А.
Институт экспериментальной медицины,
Санкт-Петербург

Аннотация. *В работе представлены синтез и результаты исследования методом молекулярного докинга двух новых региоизомерных соединений - 4,6-диморфолино-N-(2-(4-((5-нитро-1H-бензо[d]имидазол-1-ил)метил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)этил)-1,3,5-триазин-2-амина (9) и 4,6-диморфолино-N-(2-(4-((6-нитро-1H-бензо[d]имидазол-1-ил) метил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)этил)-1,3,5-триазин-2-амина (10). Целевые соединения были рационально спроектированы в качестве потенциальных битаргетных ингибиторов фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K) - одного из ключевых ферментов сигнального пути PI3K/Akt/mTOR, а также фермента PARP1, участвующего в репарации ДНК. In silico докинг показал, что соединение 9 обладает более высоким сродством к обеим мишеням по сравнению с региоизомером 10, что обусловлено дополнительными водородными связями с ключевыми аминокислотными остатками (Val851, Tyr836). Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности дальнейших in vitro исследований для экспериментальной оценки биологической активности и подтверждения битаргетного механизма действия.*

Ключевые слова: *1,3,5-триазин, бензимидазол, PARP-ингибиторы, PI3K-ингибиторы, сигнальный путь PI3K/Akt/mTOR, молекулярный докинг.*

Введение. Сигнальный путь PI3K/Akt/mTOR играет ключевую роль в регуляции роста, пролиферации, выживания и метаболизма клеток. Гиперактивация данного сигнального каскада является одной из характерных особенностей многих злокачественных новообразований и ассоциирована с прогрессированием опухолевого процесса. Ингибирование фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K), являющейся одним из ключевых ферментов данного пути, приводит к подавлению передачи внутриклеточного сигнала, нарушению пролиферации и индукции апоптоза опухолевых клеток, что делает PI3K перспективной мишенью для разработки таргетных противоопухолевых препаратов [1]. Ряд известных ингибиторов PI3K, включая гедатолисиб и бимиралисиб, содержит в своей структуре 4,6-диморфолино-1,3,5-триазиновый фрагмент, рассматриваемый в качестве перспективного фармакофора для создания новых противоопухолевых агентов [2, 3].

Ранее было показано, что комбинированное ингибирование PI3K и PARP1 - фермента, участвующего в репарации одноцепочечных разрывов ДНК, - обеспечивает выраженный синергетический противоопухолевый эффект [4]. Для многих ингибиторов PARP характерно наличие конденсированной азотсодержащей гетероциклической системы, имитирующей никотинамидный фрагмент NAD^+. В частности, в структуре ингибитора PARP велипариба присутствует бензимидазольный цикл, рассматриваемый в качестве одного из ключевых фармакофорных элементов [5, 6].

На основании анализа известных фармакофорных фрагментов ингибиторов PI3K и PARP1 нами была предложена структура гибридной молекулы, объединяющей 4,6-диморфолино-1,3,5-триазиновый фрагмент, потенциально обеспечивающий ингибирование PI3K, и бензимидазольный фрагмент, характерный для ряда ингибиторов PARP, соединённые этил-1,2,3-триазольным линкером. Предполагалось, что объединение двух фармакофоров в одной молекуле позволит реализовать стратегию битаргетного ингибирования PI3K/PARP1 и потенциально повысить противоопухолевую эффективность при снижении эффективной терапевтической дозы по сравнению с комбинированным применением отдельных ингибиторов.

Цель. Создание потенциального противоопухолевого агента с битаргетным действием, направленным на ингибирование PI3K и PARP1.

Материалы и методы. Прогноз биологической активности проводили с помощью программного пакета Schrödinger. ЯМР-спектры записаны на спектрометре Bruker AVANCE III HD 400 NanoBay.

Результаты и обсуждение:

Синтез соединений **9**, **10**

Синтез целевых соединений **9** и **10** осуществлён в соответствии со схемой 1. На первом этапе последовательным замещением атомов хлора в цианурхлориде **1** получено соединение N-(2-азидоэтил)-4,6-диморфолино-1,3,5-триазин-2-амин **3**. Параллельно проведено алкилирование смеси изомерных нитробензимидазолов **5** и **6** пропаргилбромидом, что привело к образованию смеси N-пропаргильных производных **7** и **8**. Финальный этап – медь-катализируемое 1,3-диполярное циклоприсоединение соединения **3** к алкинам **7** и **8** – обеспечил формирование 1,2,3-триазольного линкера и позволил после хроматографического разделения получить индивидуальные региоизомеры **9** и **10** соответственно.

Структура соединений подтверждена данными ЯМРспектроскопии и элементного анализа. В спектрах ^{1}H ЯМР (DMSOd_6) зафиксированы сигналы протонов морфолиновых циклов (3.32–3.66 м.д.), метиленовых групп (4.45 м.д.) и триазольного цикла (8.02 м.д.), что свидетельствует о протекании клик-реакции. В спектрах ^{13}C ЯМР сигналы триазинового цикла наблюдаются при 165.1 и 166.2 м.д. Элементный анализ соответствует рассчитанным составам (приведены в экспериментальной части).

Результаты докинга

Для оценки потенциального сродства целевых соединений **9**, **10** к выбранным молекулярным мишеням проведено исследование методом молекулярного докинга. В качестве мишеней использовали PI3K-α (PDB ID: 8EXL) и PARP1 (PDB ID: 7ONT). Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Результаты молекулярного докинга

	PI3K-α	PARP1 (сайт 1)	PARP1 (сайт 2)
Соединение **9**	-6.834 ккал/моль	-5.419 ккал/моль	-3.128 ккал/моль
Соединение **10**	-5.803 ккал/моль	-2.556 ккал/моль	-5.478 ккал/моль

.

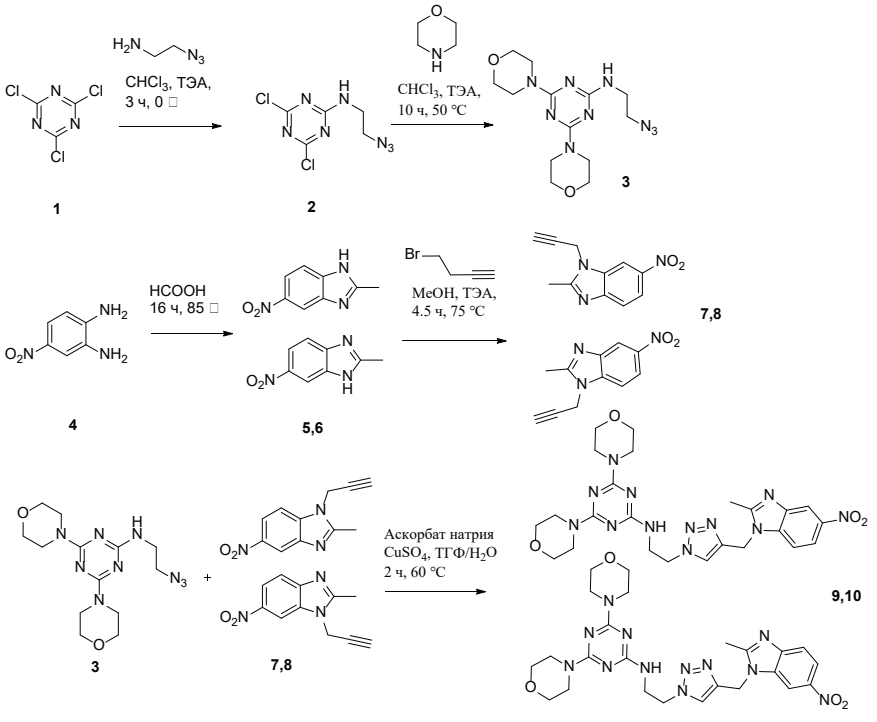
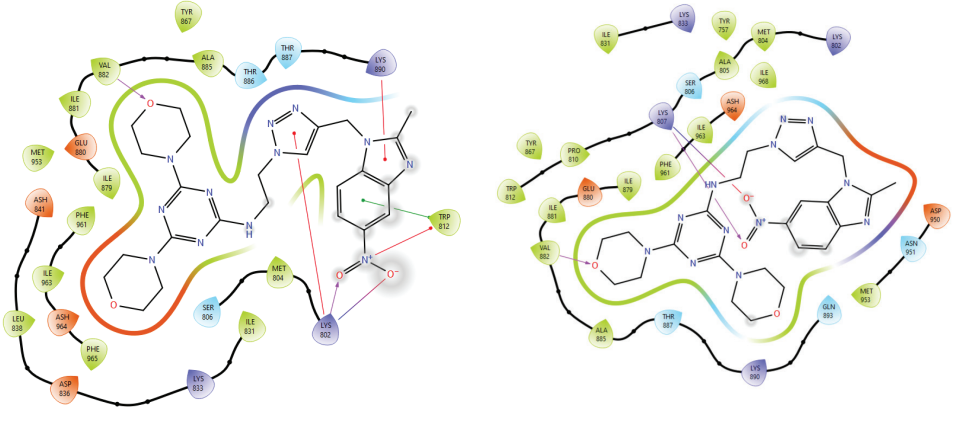
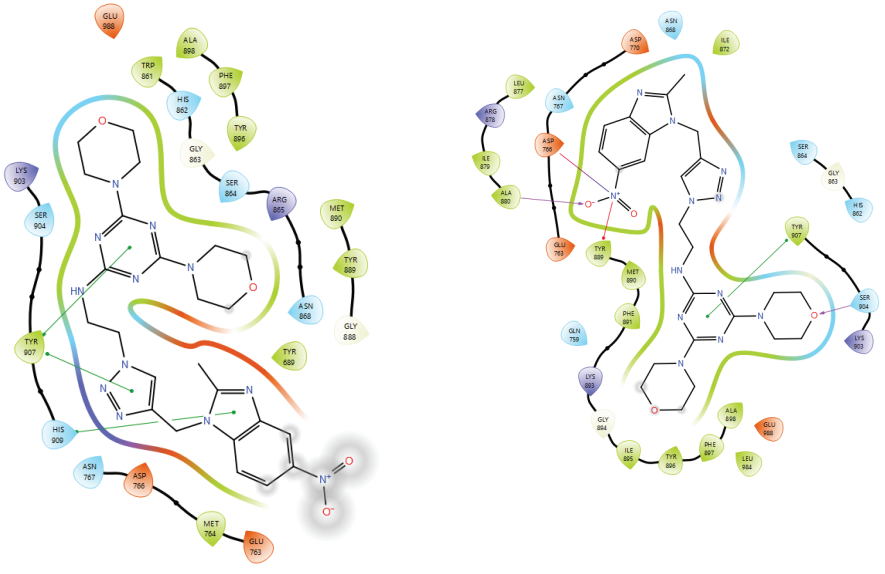


Схема 1.
Синтез целевых соединений 9 и 10



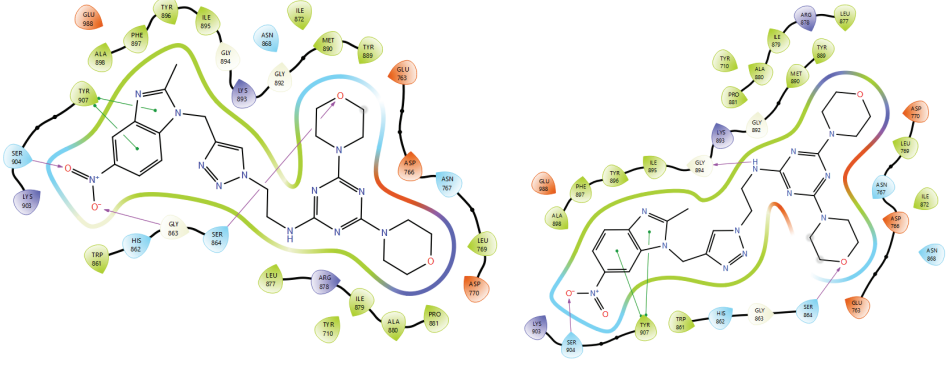
а б

Рис.1.
Взаимодействие соединения 9 (а) и 10 (б) с PI3K-α



а б

Рис.2.
Взаимодействие соединения 9 (а) и 10 (б) с PARP1 в сайте 1



а б

Рис.3.
Взаимодействие соединения 9 (а) и 10 (б) с PARP1 в сайте 2

Как видно из данных таблицы 1 и рисунка 1, расположение нитрогруппы в 5-м положении бензимидазольного цикла (соединение **9**) способствует наиболее удачному сворачиванию линкера для образования дополнительных связей с сайтом PI3K-α. Из рисунка 2 видно, что наибольший выигрыш по связыванию дает образование π-π связей с остатками тирозина и гистидина. Размещение нитрогруппы в 5 положении позволяет молекуле выигрышно расположиться в кармане связывания 2 для PARP1, что подтверждается лучшими показателями докинга.

Полученные результаты позволяют предположить, что соединение **9** может обладать более высоким сродством к PI3K-α и PARP1 по сравнению с региоизомером **10**, однако данное предположение требует экспериментального подтверждения в биологических исследованиях.

Экспериментальная часть. К раствору цианурхлорида 1 (3 г, 16.3 ммоль) в хлороформе при 0-5 °С по каплям добавили раствор 2-азидоэтан-1-амина (1.26 г, 14,6 ммоль) и триэтиламина (4.52 мл, 32.5 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 3 ч, поддерживая pH в интервале 8–10 добавлением триэтиламина. Смесь экстрагировали, органический слой отделяли, сушили над $CaCl_2$ очищали колоночной хроматографией ($CHCl_3$/CH_3OH, 9/1). Получено кристаллическое вещество белого цвета (2.54 г, 67%).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$): δ 3.53 (дт, *J* = 8.5; 5.8 Гц, 2H, CH_2), 3.66 (дт, *J* = 18.5; 5.8 Гц, 2H, CH2).

^{13}C ЯМР (101 МГц, CDCl3): δ 40,3 (CH_2–NH), 50,3 (CH_2–N), 166,5 (N–C–NH), 170,9 (N–C–Cl).

*Синтез N-(2-а*зидоэтил)-4,6-диморфолино-1,3,5-триазин-2-амина ***(3)***

К раствору соединения **2** (2 г, 8.6 ммоль) в хлороформе по каплям добавили морфолин (1.86 г, 21.4 ммоль) и триэтиламин (5.94 мл, 42.7 ммоль). Реакционную массу выдерживали 10 ч при 50 °С, поддерживая pH 8–10 добавлением триэтиламина, экстрагировали водой, органический слой отделяли, сушили над $CaCl_2$, и очищали колоночной хроматографией на силикагеле (элюент $CHCl_3$/CH_3OH, 9/1). Соединение **3** выделено в виде светло-жёлтого масла (2.56 г, 89%).

^{1}H ЯМР ($CDCl_3$, 400 МГц): δ 3.55–3.68 (м, 8H, CH_2-O-морфолин), 3.70–3.82 (м, 10H, CH_2-N-морфолин и CH_2-NH), 4.47 (т, *J* = 6.0 Гц, 2H, CH_2-N_3). ^{13}C ЯМР ($CDCl_3$, 101 МГц): δ 40.5 (CH_2-NH), 43.8 (CH_2-N-морфолин), 50.6 (CH_2-N_3), 66.7 (CH_2-O-морфолин), 165.2 (C-NH), 166.5 (C-N-морфолин).

Синтез *6-нитро-1H-*бензо*[d]имидазол (5), 5-нитро-1H-*бензо*[d]имидазол*а ***(6)***

Смесь 4-нитробензол-1,2-диамина (10 г, 65.30 ммоль) и муравьиной кислоты (7.39 мл, 195.9 ммоль) выдерживали при 85 °С в течение 16 ч. Реакционную массу нейтрализовали водным раствором аммиака до pH 7. Осадок отфильтровали и перекристаллизовали из смеси вода–этанол. Полученное соединение представляет собой кристаллический продукт белого цвета (9.01 г, 84%).

Синтез *5-нитро-1-(проп-2-ин-1-ил)-1H-бензо[d]имидазол (7) и 6-нитро-1-(проп-2-ин-1-ил)-1H-бензо[d]имидазол*а ***(7, 8)***

К раствору смеси соединений **5** и **6** (5.0 г, 30.7 ммоль) в метаноле при 0-5 °С добавляли пропаргилбромид (6.5 мл, 76.6 ммоль) и триэтиламин (6.4 мл, 46 ммоль). Смесь нагревали до 75 °С в течение 4 часов (pH 9–10). После охлаждения реакционную смесь упаривали при пониженном давлении, проводили экстракцию системой $CHCl_3$/H_2O. Сушили

над $CaCl_2$, после фильтрации упаривали при пониженном давлении. Полученная смесь соединений **7** и **8** представляла собой масло желтого цвета (5.55 г).

Синтез *4,6-диморфолино-N-(2-(4-((5-нитро-1H-бензо[d]имидазол-1-ил)метил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)этил)-1,3,5-триазин-2-амина (**9**) и 4,6-диморфолино-N-(2-(4-((6-нитро-1H-бензо[d]имидазол-1-ил)метил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)этил)-1,3,5-триазин-2-амина (**10**)*

В смесь ТГФ/вода (40 мл ТГФ, 10 мл воды) добавляли соединение **3** (3.0 г, 8.95 ммоль), смесь изомеров **7**, **8** (1.8 г, 9.0 ммоль), а также каталитические количества сульфата меди(II) и аскорбата натрия. Реакцию проводили при 60 °C в течение 2 ч. После упаривания растворителя смесь разделяли колоночной хроматографией на силикагеле ($CHCl_3$/CH_3OH, 9/1).

• Соединение **9**: желтые игольчатые кристаллы (1.33 г, 32%).

• Соединение **10**: светло-желтые игольчатые кристаллы (1.91 г, 49%).

Спектральные данные для соединения **9**:

^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*$_6$): δ 2.68 (с, 3H, CH_3), 3.52–3.66 (м, 16H, морфолин), 4.46 (т, $^3J_{HH}$ = 5.9 Гц, 2H, CH_2-CH_2-NH), 5.56 (с, 2H, N-CH_2-триазол), 6.87 (т, $^3J_{HH}$ = 6.0 Гц, 1H, NH), 7.67 (d, 2H, $^3J_{HH}$ = 5.9 Гц, ArH), 8.06–8.11 (дд, $^3J_{HH}$ =8.83, 2.26 Гц, 1H, ArH), 8.12 (с, 1H, CH-триазол), 8.39 (с, 1H, ArH).

^{13}C ЯМР (101 МГц, DMSO-*d*$_6$): δ 14.38 (с, CH_3), 38.9 (N-CH_2-триазол), 40.7 (CH_2-NH), 43.6 (CH_2-N-морфолин), 49.7 (CH_2-CH_2-NH), 66.5 (CH_2-O-морфолин), 111.0 (Ar), 114.7 (Ar), 117.7 (Ar), 118.8, 124.3 (Ar), 134.9 (Ar) 156.9 (CH_3-C) (ароматические C и C триазола), 141.9 (C=N), 143.0 (C-NO_2), 165.1 (C-NH), 166.2 (C-N-морфолин).

Спектральные данные для соединения **10**:

^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*$_6$): δ 2.68 (с, 3H, CH_3), 3.52–3.66 (м, 16H, морфолин), 4.46 (т, $^3J_{HH}$ = 5.9 Гц, 2H, CH_2-CH_2-NH), 5.63 (с, 2H, N-CH_2-триазол), 6.87 (т, *J* = 6.0 Гц, 1H, NH), 7.67 (d, 2H, $^3J_{HH}$ = 5.9 Гц, ArH), 8.01–8.07 (дд, $^3J_{HH}$ =8.83, 2.26 Гц, 1H, ArH), 8.13 (с, 1H, CH-триазол), 8.67 (с, 1H, ArH).

^{13}C ЯМР (101 МГц, DMSO-*d*$_6$): δ 14.53 (с, CH_3), 39.1 (N-CH_2-триазол), 40.8 (CH_2-NH), 43.6 (CH_2-N-морфолин), 49.7 (CH_2-CH_2-NH), 66.5 (CH_2-O-морфолин), 111.0 (Ar), 114.7 (Ar), 117.8 (Ar), 124.4(Ar), 140.0 (Ar), 156.9 (CH_3-C) (ароматические C и C триазола), 142.11 (C=N), 143.0 (C-NO_2) 165.1 (C-NH), 166.2 (C-N-морфолин).

Элементный анализ:

Соединение **9** ($C_{23}H_{28}N_{12}O_4$). Вычислено, %: C 51.49; H 5.26; N 31.33. Найдено, %: C 51.39; H 5.31; N 31.42.

Соединение **10** ($C_{23}H_{28}N_{12}O_4$). Вычислено, %: C 51.49; H 5.26; N 31.33. Найдено, %: C 51.42; H 5.33; N 31.27.

Заключение. В ходе выполнения работы осуществлены рациональный дизайн и многостадийный синтез двух новых изомерных производных 1,3,5-триазина, содержащих 4,6-диморфолино-1,3,5-триазиновый и нитробензимидазольный фрагменты, соединённые этил-1,2,3-триазольным линкером. Целевые соединения **9** и **10** получены с выходами 32 и 49 % соответственно; их структура подтверждена данными ^{1}H и ^{13}C ЯМР-спектроскопии и элементного анализа.

Результаты молекулярного докинга свидетельствуют о наличии расчетного сродства обоих соединений к PI3K-α и PARP1, что согласуется с концепцией создания потенциальных битаргетных ингибиторов. Соединение **9** (5-нитроизомер) характеризуется

более высокими расчетными показателями связывания по сравнению с соединением **10** (6-нитроизомером), что связано с образованием дополнительных водородных связей с аминокислотными остатками Val851 и Tyr836.

Полученные результаты позволяют рассматривать соединение **9** в качестве наиболее перспективного кандидата для дальнейших биологических исследований. Разработанный подход может служить основой для создания новых битаргетных ингибиторов PI3K/PARP1 и дальнейшей оптимизации их структуры.

Выводы. Разработан препаративный метод синтеза двух изомерных гибридов 4,6-диморфолино-1,3,5-триазина и нитробензимидазола. По результатам молекулярного докинга соединение **9** характеризуется наиболее высоким расчетным сродством к PI3K и PARP1 и представляет наибольший интерес для дальнейших биологических исследований.

Список литературы:

1. *Liu P., Cheng H., Roberts T. M., Zhao J. J. Targeting the phosphoinositide 3-kinase pathway in cancer // Nature Reviews Drug Discovery. — 2009. — Т. 8, № 8. — С. 627–644.*
2. *Fruman D. A., Rommel C. PI3K and cancer: lessons, challenges and opportunities // Nature Reviews Drug Discovery. — 2014. — Т. 13, № 2. — С. 140–156.*
3. *Li J., Li L., Liu Y., Zhang J., Shi C., Zhou S., Qiu H. Design, synthesis, and anticancer activity of novel 4,6-dimorpholinyl-1,3,5-triazine compounds // Heterocyclic Communications. — 2023. — Т. 29, № 1. — DOI: 10.1515/hc-2022-0152.*
4. *Wang D., Li C., Zhang Y., et al. Combined inhibition of PI3K and PARP is effective in the treatment of ovarian cancer cells with wild-type PIK3CA genes // Gynecologic Oncology. — 2016. — Т. 142, № 3. — С. 548–556.*
5. *Menear K. A., Adcock C., Boulter R., et al. 4-[3-(4-Cyclopropanecarbonylpiperazine-1-carbonyl)-4-fluorobenzyl]-2H-phthalazin-1-one: a novel bioavailable inhibitor of poly(ADP-ribose) polymerase-1 // Journal of Medicinal Chemistry. — 2008. — Т. 51, № 20. — С. 6581–6591.*
6. *Drew Y., Calvert H. The potential of PARP inhibitors in genetic breast and ovarian cancers // Annals of the New York Academy of Sciences. — 2008. — Т. 1138, № 1. — С. 136–145.*

* * *

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ИННЕРВАЦИИ НИЖНЕГО ПИЩЕВОДНОГО СФИНКТЕРА КРЫСЫ

Чумасов Е.И.[1,2], Петрова Е.С.[1], Колос Е.А.[1], Коржевский Д.Э.[1]

[1]Институт экспериментальной медицины,
[2]Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины,
Санкт-Петербург

Аннотация. *Цель работы - иммуногистохимическое исследование нервных структур нижнего пищеводного сфинктера (НПС) крыс с применением нейральных маркеров. Для выявления нервных структур НПС у крыс Вистар (n=6) использовали антитела к белку PGP 9.5, периферину, тирозингидроксилазе и глиальному маркеру белку S100β. Установлено, что ткани НПС богато иннервированы холинергическими структурами. При этом в краниальном отделе НПС, где локализуется поперечно-полосатая мускулатура, аналогичная мышечной оболочке пищевода, иннервация оказалась заметно ниже по сравнению с мышечной оболочкой желудка, состоящей из гладкомышечных клеток. Нервные структуры кардиального отдела НПС со стороны желудка представлены терминальной сетью тяжей парасимпатических вегетативных нервных волокон Ремака (дистантные синапсы en passant) и группами мелких холинергических нейронов ауэрбахова сплетения. Постганглионарные холинергические и симпатические волокна в поперечно-полосатой мускулатуре наблюдаются, главным образом, вокруг сосудов микроциркуляторного русла и в гладкомышечной пластинке слизистой оболочки пищевода.*

Ключевые слова: *нижний пищеводный сфинктер, иннервация, белок 9.5, тирозингидроксалаза, иммуногистохимия.*

Введение. Актуальность исследования дистального отдела пищевода и нижнего пищеводного сфинктера обусловлена большой распространенностью в настоящее время заболеваний пищевода (ПЩ), в частности, гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ), которую порой называют эпидемией двадцать первого века. Разработка подходов к диагностике и лечению заболеваний пищевода требует глубоких фундаментальных исследований особенностей нервно-мышечных взаимодействий, значения периферической глии в развитии пищевода и его иннервации. В ранее выполненных исследованиях иннервации тканей ПЩ, НПС и желудка использовались такие методы, как электронная микроскопия, общегистологические методы, гистохимические, методы с использованием антероградного мечения [1-3]. В последние годы для изучения морфофункциональных особенностей нервных аппаратов органов пищеварительной системы широко применяются ИГХ-методы выявления селективных белков, свойственных различным структурным элементам нервной системы [4]. Наиболее изучены источники афферентной и эфферентной иннервации тканей ПЩ из высших отделов ЦНС и ПНС [1, 3, 5, 6]. Меньше внимания уделяется автономной иннервации стенки пищевода и нижнего пищеводного сфинктера. Целью настоящей работы явилось иммуногистохимическое исследование нервных структур нижнего пищеводного сфинктера (НПС) крыс с применением нейральных маркеров.

Материалы и методы. Работа выполнена на крысах Вистар массой 200-250 г. (n=6). При работе с животными (содержании и эвтаназии) соблюдали принципы Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986 г.) и «Правила надлежащей лабораторной практики» (приказ № 199н от 01.04.2016 г. Минздрава России). Проведение исследования одобрено Локальным этическим комитетом Института экспериментальной медицины (протокол № 1/25 от 30.01.2025). Объектом исследования служил нижний пищеводный сфинктер. Материал фиксировали в растворе цинк-эталон-формальдегида [7], обезвоживали и заливали в парафин. На срезах толщиной 5 мкм после депарафинирования проводили иммуногистохимические реакции. Для выявления белка PGP 9.5 использовали поликлональные кроличьи антитела (SpringBioscience, США). Для идентификации катехоламинергических структур - кроличьи поликлональные антитела к тирозингидроксилазе (TH) (Abcam, Великобритания). Для исследования нервных клеток и крупных нервных пучков применяли поликлональное кроличьи антитела к периферину (PF) (Agilent, USA). Синаптофизин-содержащие структуры визуализировали с помощью поликлональных кроличьих антител (MONOSAN, Нидерланды). Глиальные клетки выявляли с помощью поликлональных кроличьих антител к белку S100β (Agilent, USA). В качестве вторичных реагентов использовали реактивы из набора RevealPolyvalent HRP/DAB DetectionSystemkit (SpringBioscience, США) и набор UltraVisionQuantoDetectionSystem HRP DAB (ThermoFisherScientific, США). После проведения ИГХ-реакций часть срезов подкрашивали толуидиновым синим и астровым синим. В качестве негативного контроля использовали срезы, на которые вместо разведенных разбавителем первичных антител наносили только их разбавитель (Agilent, USA). Анализ гистологических препаратов осуществляли при помощи микроскопа Leica DM 750 (Leica, Германия) и цифровой камеры Leica ICC 50 (Leica,Германия).

Результаты и обсуждение. На продольных гистологических срезах через область перехода ПЩ в кардию желудка можно проследить, как адвентициальная оболочка ПЩ переходит в серозную оболочку желудка. В области НПС она гипертрофирована и содержит большое количество жировой ткани. В ней наряду с присутствующими многочисленными артериальными и венозными сосудами разного диаметра, тучными клетками и моноцитами, можно видеть микроганглии, крупные нервные стволики и пучки, состоящие из смешанных (миелинизированных и немиелинизированных) нервных волокон. В стенке НПС четко различается два мышечных слоя: продольный и хорошо выраженный концентрический или круговой. Мышечная оболочка НПС со стороны ПЩ состоит из поперечно-полосатых волокон (ППМ) с большим числом крупных светлых ядер в саркоплазме, сходных со скелетной мускулатурой. В дистальном отделе НПС располагается гладкомышечная ткань кардии желудка. Она представлена пучками гладкомышечных клеток (ГМК), характерных для стенки желудка, имеющих веретеновидную форму и палочковидные ядра. В зоне перехода мышечных тканей ПЩ и кардии желудка наблюдается взаимопроникновение пучков обеих тканей в виде неравномерной извилистой линии. Следует подчеркнуть, что все клеточные и волокнистые структуры окружены тонкими прослойками интерстициальной ткани, хорошо выявляющейся при подкраске астровым синим, прямых контактов между клеточными и волокнистыми элементами той и другой мускулатуры не обнаружено. В интерстиции НПС в зоне локализации мышечных тканей пищевода и желудка наблюдается скопление тучных клеток (ТК) и моноцитов,

что связано, вероятно, с особой их ролью в данном органе. С помощью применения ряда ИГХ-методов показано наличие в НПС множества нервных структур как в жировой ткани гипертрофированной адвентициальной оболочки, так и в стенках различного типа его мышечных. Можно видеть, как от крупных стволиков кровеносных сосудов и нервов, расположенных в жировой ткани гипертрофированной адвентиции НПС, выходят веточки сосудов и нервные пучки, которые проникают в мышечные слои пищевода и желудка и образуют сплетения. Это может свидетельствовать о том, что кроме нервных элементов собственно энтерального нервного сплетения, еще одним источником трофики и иннервации тканей НПС могут служить нервно-сосудистые пучки и ганглии, локализующиеся в жировой ткани адвентиции. Применение ИГХ-реакций на белок PGP 9.5 и PF позволяет видеть различия в интенсивности иннервации поперечно-полосатой мускулатуры и гладкомышечной ткани. В НПС наблюдаются рассеянно расположенные одиночные или группы нервных клеток. Часть из них находится в ганглиях адвентиции, а часть принадлежит миентеральному сплетению Ауэрбаха. Гладкая мускулатура НПС в кардии желудка, в отличие от пищевода, содержит густую сеть, состоящую из терминальных варикозных аксонов (дистантные синапсы типа *en passant*) холинергической природы, характерных для парасимпатического отдела АНС. ППМ НПС иннервирована слабее. Особенно это касается продольного мышечного слоя. В концентрическом слое ППМ встречаются отдельные пучки парасимпатических аксонов, тесно прилежащих к сарколемме исчерченных волокон, которые, по мнению авторов, могут представлять собой истинно соматические нейромышечные синапсы. С помощью ИГХ-реакций на белок PGP 9.5, PF и S100β в НПС установлена существенная разница в интенсивности иннервации ППМ и гладкой мышечных тканей. С помощью окраска на S100β показано, что тончайшие тяжи аксонов заключены в ретикулярную узкопетлистую глиальную сеть, в которой при подкраске препаратов толуидиновым синим видны многочисленные округлые или веретеновидные ядра нейролеммоцитов или клеток Кахаля, характерных для ЭНС. Исчерченная мускулатура пищеводной части НПС иннервирована значительно слабее. Нервные структуры в ней представлены широкопетлистым сплетением нервных волокон, принадлежащих, судя по морфологическим признакам, тонким миелинизированным и немиелинизированным аксонам ПНС. Их проводниковые отделы заключены в цитоплазматические футляры нейролеммоцитов и шванновских клеток, а терминальные веточки и синаптические бутоны заканчиваются на ППМ волокнах. С помощью реакции на синаптофизин подтвердилось мнение, что подавляющая масса синаптофизин-иммунореактивных структур, локализованных в гладкомышечной ткани НПС, представляют собой дистантные синапсы (типа *en passant*), относящиеся к постганглионарным нервным волокнам холинергической природы, характерных для ЭНС. Таким образом, показано, что гладкая мускулатура мышечной ткани сфинктера, локализованная в кардии желудка, в отличие от пищеводной части сфинктера, богато иннервирована волокнами энтеральной нервной системы, в то время как ППМ представлена нейро-мышечными синапсами периферической нервной системы. Фрагменты терминальной сети синаптофизин-позитивных волокон ауэрбахова сплетения наблюдаются, как отмечалось ранее, в НПС в основном вокруг сосудов МЦР, в интерстиции, и в рыхлой соединительной ткани перимизия, окружающего пучки ППМ. В тканях НПС нередко встречаются одиночные нейроны, а также группы мелких нервных клеток с окружающими их перицеллюлярными или межнейронными синапсами. Применение ИГХ-реакции к тирозингидроксилазе

(маркеру катехоламинергических структур) показало, что в исчерченной мышечной ткани ПЩ, включая НПС, симпатическая иннервация очень слабо выражена. Фрагменты симпатической сети нервных волокон обнаруживаются только вокруг многочисленных магистральных артериальных и венозных сосудов, расположенных в дольках жировой ткани, в адвентициальной оболочке НПС, в гладкомышечной пластинке подслизистой оболочки, а также в сосудах МЦР мышечной оболочки исследуемых органов.

Особенностям нейрональной регуляции пищевода, включая НПС, посвящено много исследований [1, 6, 8, 9]. Изучение иннервации пищевода, осуществляемое различными методами, в том числе: антероградное мечение, гистохимия и иммуногистохимия, трансмиссионная электронная микроскопия и др. [10, 11], позволило установить, что стенка пищевода и НПС хорошо иннервированы. В иннервации тканей сфинктера участвуют нервные клетки центральной, периферической, а также энтеральной нервной системы [6]. По данным физиологических исследований возбуждающие и релаксирующие реакции в НПС реализуются холинергическими и нитроксидергическими нейронами, локализующимися в НПС [1, 9]. Источниками эфферентной и афферентной иннервации НПС являются вагальные, спинномозговые корешковыми нервные волокна, а также нейроны энтерального межмышечного сплетения [6]. Известно, что нервы блуждающих, корешковых спинномозговых и симпатических ганглиев обеспечивают ПЩ и НПС двигательной, моторной регуляцией, а также афферентными проекциями. Результаты настоящего исследования подтверждают и дополняют имеющиеся в литературе данные. С помощью ИГХ-методов нами установлено, что гетероморфные мышечные ткани НПС богато иннервированы. Гладкая мускулатура НПС имеет хорошо выраженную иннервацию, представленную основной синаптической терминальной сетью, характерной для энтеральной нервной системы. Установлено, что в НПС крысы иннервация гладкомышечной ткани интенсивнее, чем поперечно-полосатой. Фрагменты ганглиозного ауэрбахова сплетения были выявлены как в гладкой, так и в поперечно-полосатой мышечных тканях НПС. По нашим данным в подслизистом нервном сплетении НПС крысы ганглии отсутствуют. В дольках жировой ткани, окружающей НПС, обнаружены фрагменты нервных стволов, стволиков, пучков, состоящих из различного диаметра миелиновых и безмиелиновых волокон, ганглиев и микроганглиев, крупных и мелких сосудов, а также многочисленные скопления тучных клеток.

Заключение. На основании собственных и литературных данных, касающихся особенностей иннервации стенки НПС, сосредоточения в окружающем его жировом депо и в адвентиции, большого разнообразия нервных аппаратов и сосудов, можно предположить, что НПС может служить в качестве дополнительного самостоятельного места переключения рефлекторных дуг между центральной, периферической и метасимпатической (ЭНС) нервными системами. При патологии эти взаимодействия могут приводить к функциональным изменениям, в частности к нарушению процессов локомоторной деятельности кишечного тракта, что, по нашему мнению, играет важную роль для разработки и поиска способов терапии заболеваний желудочно-кишечного тракта, связанных с ГЭРБ.

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета государственного задания Федерального государственного бюджетного научного учреждения “Институт экспериментальной медицины”. Шифр темы: FGWG-2025-0003.

Список литературы:

1. *Mazzia C., Clerc N. Ultrastructural analysis of spinal primary afferent fibers within the circular muscle of the cat lower esophageal sphincter // Histochem Cell Biol. 2000. Vol. 113. N3. P.235-239. https://doi.org/10.1007/s004180050443*
2. *Spencer N.J., Zagorodnyuk V., Brookes S.J., Hibberd T. Spinal afferent nerve endings in visceral organs: recent advances // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2016. Vol. 311. N6. P. 1056-1063. https://doi.org/10.1152/ajpgi.00319.2016*
3. *Ma J., Nguyen D., Madas J., Kwiat A.M., Toledo Z., Bizanti A., Kogut N., et al. Spinal afferent innervation in flat-mounts of the rat stomach: anterograde tracing // Sci. 2023. Vol. 13. N1. P. 17675. https://doi.org/10.1038/s41598-023-43120-y*
4. *Чумасов Е.И., Петрова Е.С., Самедов В.Б., Колос Е.А., Коржевский Д.Э. Иммуногистохимические маркеры для исследования органов пищеварительной системы // Клин. и эксперим. морфол. 2022. Т. 11. №4. С. 70-84. https://doi.org/10.31088/CEM2022.11.4.70-84*
5. *Hudson L.C., Cummings J.F. The origins of innervation of the esophagus of the dog // Brain Res. 1985. Vol. 326. P.125–136.*
6. *Neuhuber W.L., Raab M., Berthoud H.R., Wörl J. Innervation of the mammalian esophagus // Adv Anat Embryol Cell Biol. 2006. Vol. 185. P. 1-73.*
7. *Grigorev I.P., Korzhevskii D.E. Current technologies for fixation of biological material for immunohistochemical analysis (review) // Modern Technol Med. 2018. Vol. 10. N2. P. 156-165. https://doi.org/10.17691/stm2018.10.2.19*
8. *Баженов Д.В., Банин В.В., Петрова М.Б. Филогенез мышечной оболочки пищевода позвоночных. Тверь: Альфа-Пресс, 2005.159с.*
9. *Мотавкин П.А. Оксид азота в органах пищеварительной системы // Тихоокеан. мед. ж. 2004. Т. 2. С. 13-17.*
10. *Orlando R.C. Current understanding of the mechanisms of gastro-oesophageal reflux disease // Drugs. 2006. Vol. 66. Suppl 1. P.1-5; discussion 29-33. https://doi.org/10.2165/00003495-200666001-00002*
11. *Goyal R.K., Padmanabhan R., Sang Q. Neural circuits in swallowing and abdominal vagal afferent-mediated lower esophageal sphincter relaxation // Am J Med. 2001. Vol. 111. Suppl 8A: 95S–105S.*

* * *

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ В ЭТИОТРОПНОЙ, ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ, САНОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ИНФЕКЦИОННЫХ И ОПУХОЛЕВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Шамова О.В.[1,2], Орлов Д.С.[1], Жаркова М.С.[1], Сухарева М.С.[1], Владимирова Е.В.[1], Гришина Т.В.[2], Леонова Л.Е.[2], Филатенкова Т.А.[1], Чернов А.Н.[1], Комлев А.С.[1], Зенин Г.С.[3]

[1]Институт экспериментальной медицины,
[2]Санкт-Петербургский государственный университет,
[3]Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова,
Санкт-Петербург

Аннотация. *В статье рассмотрены особенности пептидов врожденного иммунитета, которые определяют перспективность их практического применения в качестве антимикробных, противоопухолевых, иммуномодулирующих препаратов. Обоснованы преимущества пептидов животного происхождения по сравнению с пептидами микроорганизмов. Представлены данные о разработке новых антимикробных композиций на основе синтетических аналогов природных пептидов (протегринов, бактенецинов, мицецилина и др.), подтверждающие целесообразность их применения в терапии раневых инфекций, вызываемых антибиотикоустойчивыми бактериями, а также результаты исследований пептидов как противоопухолевых средств.*

Ключевые слова: *антимикробные пептиды, лекарственная устойчивость, пептидные препараты, врожденный иммунитет.*

Введение. Антимикробные пептиды (АМП) врожденного иммунитета в последние годы привлекают всё большее внимание ученых, так как обладают спектром свойств, которые могут найти практическое применение. АМП – это разнообразные по структуре молекулы, которые объединены в одну группу по осуществляемой ими защитной функции и локализации (преимущественно в фагоцитах и клетках барьерных эпителиев, а также, в меньших количествах и в других клетках иммунной и нервно-эндокринной системы). Большинство АМП характеризуется положительным суммарным зарядом молекулы и амфипатичностью, вследствие чего и обладают антимикробными свойствами. Многие АМП проявляют мембранолитическую активность, что обусловливает их быстрое антимикробное действие, затрудняет выработку резистентности к ним микроорганизмов, но при этом снижает избирательность действия против чужеродных агентов. Некоторые пептиды не обладают выраженным повреждающим действием на мембраны, нацелены, в основном, на внутриклеточные мишени в микробных клетках, но часто демонстрируют и иммуномодулирующее действие, проникая в клетки макроорганизма или воздействуя на различные рецепторы на мембранах клеток, участвующих в реализации защитных реакций. В зависимости от структуры и концентрации, пептиды проявляют разные виды биологической активности: антимикробную, в том числе антибиопленочную, липополисаханид-связывающую; противоопухолевую, иммуномо-

дулирующую, ноотропную, стресс-лимитирующую, кортикостатическую и др. Такой набор свойств обусловливает преимущества пептидов животного происхождения перед пептидными препаратами, созданными на основе АМП микроорганизмов (грамицидин, даптомицин, полимиксины, ванкомицин и др.) и делает АМП врожденного иммунитета привлекательными объектами для детального исследования, направленного на внедрение этих соединений в медицину. Однако на пути практического применения АМП имеется ряд проблем – не всегда высокая селективность действия пептидов в отношении клеток-мишеней, относительно невысокая стабильность в биологических жидкостях. Для преодоления этих трудностей создаются синтетические аналоги АМП с измененными свойствами, которые и могут стать прототипами новых лекарственных средств. Эти препараты могут быть использованы, как в этиотропной, так и в патогенетической, и саногенетической терапии, так как одни АМП могут действовать **напрямую**, инактивируя бактериальные или опухолевые клетки, устраняя причину болезни; другие – выступать в роли иммуномодулирующих соединений, ранозаживляющих средств, способствующих опосредованно реализации защитных функций, в целом, и коррекции последствий патологического процесса; а некоторые АМП могут участвовать в активации защитных, компенсаторных, репаративных и других адаптивных процессов.

Целью нашей работы явилось изучение возможности создания прототипов новых антимикробных или противоопухолевых препаратов на основе пептидов врожденного иммунитета.

Материалы и методы. В работе использован набор биохимических, микробиологических методов, а также применены различные экспериментальные модели *in vivo*. Пептиды получали методом химического твердофазного синтеза. Антимикробную активность пептидов характеризовали методом серийных разведений в жидкой питательной среде [1], методом радиальной диффузии, антибиопленочную активность оценивали с применением кристаллического фиолетового [2]; цитотоксическое действие исследовали с помощью МТТ-теста [3], с применением кристаллического фиолетового, трипанового синего, йодида пропидия; использовали следующие экспериментальные модели *in vivo*: инфицированная кожная рана у мышей, карцинома Эрлиха у мышей, глиома С6 у крыс. Объекты исследования: АМП различных структурных классов (бета-шпилечные пептиды протегрины, мицецилин, рицецилин и др.; обогащенные пролином пептиды, альфа-спиральный пептид LL-37) и их структурные модификации.

Результаты и обсуждение. Для преодоления проблем, связанных с мембранолитическими эффектами пептидов, проявляющихся и в отношении клеток человека, использовали следующие подходы: 1) создание структурных аналогов природных АМП, обладающих «улучшенными» свойствами – более высоким индексом селективности; 2) применение АМП в комбинации с другими антимикробными или противоопухолевыми агентами, с которыми пептиды проявляют синергичное действие, что позволяет снизить действующие концентрации этих соединений и нивелировать нежелательные эффекты; 3) использование опосредованных эффектов пептидов – иммуномодулирующее, ранозаживляющее, противовоспалительное действие.

Антимикробная активность. Был синтезирован широкий спектр аналогов природных АМП различной структуры, охарактеризовано их действие на мультиантибиотикорезистентные госпитальные штаммы бактерий. Показано, что исследуемые АМП - пептиды с конформацией бета-шпильки (протегрин 1, мицецилин, рицецилин, арени-

цин 1), пролин-богатый пептид бактенецин 3.4, а также их структурные модификации, проявляют выраженную антимикробную активность в концентрациях 0.25-16 мкМ в отношении бактерий группы ESKAPE (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii и др.,* в том числе устойчивых к карбапенемам), полученных из инфицированных ожоговых ран и из раневого отделяемого пациентов с тяжелой сочетанной травмой, проходящих лечение в стационарах.

Проведен сравнительный анализ безопасности для клеток человека наиболее активных в отношении микроорганизмов пептидов: оценена цитотоксическая активность в отношении нормальных и опухолевых клеток, рассчитаны индексы селективности, отобрана линейка препаратов, обладающих оптимальными свойствами - высокой активностью в отношении мультирезистентных клинических изолятов бактерий и отсутствием значимой токсичности для клеток человека *in vitro.* Наиболее высокий индекс селективности был получен для синтетических аналогов бактенецина 3.4, мицециллина, протегрина 1.

Охарактеризована антибиопленочная активность пептидов. Показано, что исследуемые пептиды препятствуют формированию бактериальной биопленки из монокультур антибиотикоустойчивых бактерий, а также смешанными культурами бактерий группы ESKAPE. По результатам работ получены 2 патента [4, 5].

Проведено исследование совместного действия АМП с другими антимикробными соединениями: конвенциональными антибиотиками и антисептиками, выявлены случаи синергизма (наиболее часто - при совместном использовании АМП с антибиотиками класса анминогликозидов и макролидов, с антисептиками пронтосаном, повиорголом, хлоргексидином). Установлено, что получение комплексов мембранолитических АМП, в частности, протегрина 1, с наночастицами серебра позволяет существенно снизить цитотоксическую активность пептида и повысить селективность препарата в отношении микробных клеток. Исследованы комбинации, содержащие три компонента (пептид, антибиотик, антисептик) и более сложные сочетания. Исследована антимикробная активность пептидов в отношении смешанных культур микроорганизмов, полученных из инфицированных ран пациентов, показано, что при использовании пептидов в комбинациях с антибиотиками (амикацин, эритромицин) активность препаратов многократно возрастает, даже в случае, когда микроорганизмы устойчивы к данным антибиотикам. В результате этих исследований были отобраны наиболее активные комбинации, применение которых позволяет повысить антимикробные свойства данных препаратов, расширить спектр их действия, снизить эффективные концентрации и избежать возможных побочных эффектов.

Проведены эксперименты на лабораторных животных, направленные на оценку эффективности антимикробных пептидных препаратов, разработанных и отобранных на основании показателей высокой антимикробной активности и безопасности по результатам экспериментов *in vitro*. На модели кожной раны у мышей, инфицированной антибиотикорезистентными бактериями подтверждена эффективность наиболее активных из исследованных комбинаций, в состав которых входили синтетические аналоги пептидов протегрина 1, мицецилина, бактенецина 3.4, PR-39. Данные пептидные композиции стали предметом патентования.

Эффективность комбинированных препаратов была также подтверждена и при использовании пептидов в обработке обширных инфицированных ран у пациентов, где

пептидные композиции служили средствами, применяемыми при жизненной необходимости (одобрено этическим комитетом ВМА им. С.М. Кирова).

Хотя пептиды микробного происхождения, например, колистин, полимиксин В и др., уже нашли применение в клинике, данные препараты обладают, в первую очередь прямым антибактериальным эффектом, не проявляют других защитных свойств, и в ряде случаев к ним вырабатывается микробная резистентность (в последнее время всё чаще появляются сообщения о распространении колистин-, ванкомицин-устойчивых штаммов). Напротив, применение разработанных нами пептидных композиций, в состав которых входят ранозаживляющие пролин-богатые пептиды, что не только позволяет элиминировать патогенные бактерии, но и стимулируют процессы репарации. Кроме того, был проведен ряд экспериментов, направленных на выяснение возможности выработки бактериальной резистентности к АМП различных структурных классов в сравнении с пептидным антибиотиком микробного происхождения – полимиксином В. Показано, что устойчивость *Escherichia coli* ML35p к бета-шпилечным пептидам протегрину и мицецилину, а также альфа-спиральному LL-37 практически не вырабатывается в исследованном интервале времени – 28 пассажей, в то время как к полимиксину В резистентность начала вырабатываться после 15-16 пассажей. Для пролин-богатых пептидов резистентность начинает вырабатываться после 22-24 пассажа, однако в комбинации с эритромицином формирования резистентности не наблюдается.

Противоопухолевая активность. Известно, что ряд антимикробных пептидов проявляет противоопухолевое действие [6]. Основной проблемой применения АМП в терапии злокачественных новообразований, как и в терапии инфекционных заболеваний, является недостаточно высокая селективность по отношению к малигнизированным или бактериальным клеткам. Задача повышения селективности может решаться по-разному: создание химерных молекул, включающих последовательность, распознающую характерные для опухолевых клеток маркеры, и отщепляемую молекулу, проявляющую цитотоксическую активность. С другой стороны, пептиды могут повышать активность используемых в медицине химиопрепаратов при комбинированном использовании, а некоторые АМП могут рассматриваться и как средства доставки химиопрепаратов в опухолевые клетки.

Нами показана цитотоксическая активность ряда мембраноактивных пептидов, в частности протегринов, в отношении различных опухолевых клеток на модели *in vitro*. Созданы структурные модификации пептидов бактенецинов, обладающие противоопухолевыми свойствами, показанными не только в экспериментах *in vitro*, но и на модели карциномы Эрлиха у мышей, наиболее эффективный пептид запатентован [7]. Также предпринята попытка получения противоопухолевых препаратов при модификации пептидов липидами – внесении остатков жирных кислот различной длины в состав молекулы пептидов, отобраны наиболее перспективные варианты.

Исследовано совместное действие пептидов с химиопрепаратами – показан синергизм протегрина 1 с доксорубицином в отношении клеток К-562 (эритромиелоидный лейкоз человека), в том числе в отношении доксорубицин-устойчивой линии К-562.

Особое внимание уделялось действию пептидов в отношении клеток глиом. Опухоли головного мозга являются наиболее трудноизлечимыми злокачественными новообразованиями, частота летальности при этом виде патологии очень высока. Поэтому в задачи работы входил поиск пептидов, эффективных в отношении клеток глиом.

Показано, что пептиды LL-37 и протегрин 1 проявляют активность против клеток глиомы крысы С6, глиомы человека U251, а также клеток глиобластомы пациентов (послеоперационный материал). Кроме того, было установлено, что пептиды могут повышать активность противоопухолевых химиопрепаратов: установлен синергизм цитотоксического действия протегрина с темозоломидом, доксорубицином, этопозидом в отношении глиом крысы С6 и человека U251.

На модели экспериментальной патологии – глиомы С6 у крыс подтверждена эффективность препаратов протегрина 1 и, в большей степени, кателицидина LL37, интраназальное введение которых крысам с привитыми опухолями вызывало повышение выживаемости экспериментальных животных.

Заключение. Проведенные эксперименты подтверждают, что синтетические аналоги антимикробных пептидов врожденного иммунитета могут рассматриваться как перспективные прототипы новых средств этиотропной терапии инфекционных и опухолевых заболеваний, так как проявляют прямое антибиотическое действие в отношении патогенных микроорганизмов или злокачественных клеток Наиболее многообещающим представляется применение пептидов в комбинированной терапии, в сочетании с другими лекарственными препаратами. Кроме того, АМП могут применяться в патогенетической терапии раневых инфекций, опосредованно действуя на репаративные процессы или повышая общую сопротивляемость организма благодаря иммуномодулирующему действию.

Список литературы:

1. *The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST. Version 13.1, 2023 http://www.eucast.org.*
2. *Dydak K., Junka A., Dydak A., Brożyna M., Paleczny J., Fijalkowski K. et al. In vitro efficacy of bacterial cellulose dressings chemisorbed with antiseptics against biofilm formed by pathogens isolated from chronic wounds. Intern. J. Mol. Sci. 2021; Vol. 22. No 8: 3996 https://dx.doi.org/10.3390/ijms22083996 .*
3. *Mosmann T. «Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays». Journal of Immunological Methods. 1983; Vol. 65. No 1–2. P. 55–63. doi:10.1016/0022-1759(83)90303-4 .*
4. *Елисеев И.Е., Сметанин Р.В., Шамова О.В., Климов Н.А., Комлев А.С., Сухарева М.С., Владимирова Е.В., Жаркова М.С., Артамонов А.Ю., Орлов Д.С. Синтетические аналоги природных пептидов, обладающих антибактериальной активностью. Патент на изобретение RU 2826459 C1, 11.09.2024. Заявка от 04.12.2023.*
5. *Шамова О.В., Жаркова М.С., Орлов Д.С., Комлев А.С., Владимирова Е.В., Овчинникова Т.В., Пантелеев П.В., Баландин С.В., Климов Н.А. Пептид, обладающий антибактериальной активностью в отношении микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью. Патент на изобретение 2771493 C1, 05.05.2022. Заявка № 2021110763 от 15.04.2021.*
6. *Bahar A, Porbaran M, Khazaei M, Tahmasebi H. Antimicrobial peptides for anticancer and antiviral therapy: last promising update. Discov Oncol. 2025. Vol. 16. No 1. P. 1991. doi: 10.1007/s12672-025-03855-8.*

7. Шамова О.В., Жаркова М.С., Умнякова Е.С., Копейкин П.М., Сухарева М.С., Комлев А.С., Овчинникова Т.В., Баландин С.В., Пантелеев П.В., Климов Н.А. Пептид, обладающий противоопухолевой активностью. Патент на изобретение 2771492 C1, 05.05.2022. Заявка № 2021110761 от 15.04.2021.

* * *

ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ И ПОВЕДЕНИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ПОСТУПЛЕНИИ В ОРГАНИЗМ АСПАРАГИНАТА ХРОМА

Шейда Е.В., Дускаева А.Г.

Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук,
Оренбург,
Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова,
Москва

Аннотация. *Целью исследования стало изучение влияния аспарагината хрома на эмоциональную и двигательную активность, а также ориентировочно-исследовательское поведение белых крыс линии Wistar. Эксперимент проводили на 156 крысах, разделённых на 4 группы (n=12), которым вводили аспарагинат хрома в дозах 0,6, 1,1 и 1,7 мг/кг в течение 21 дня; контрольная группа получала стандартный рацион. Поведение оценивали в тестах «Открытое поле» и «Темная-светлая камера», а спонтанную двигательную активность регистрировали с помощью системы «Инфракрасный актиметр» с «Панелью с отверстиями» на 7, 14 и 21 сутки. Установлено, что введение аспарагината хрома вызывает дозозависимые изменения поведения: животные 1 группы (1,1 мг/кг) демонстрировали наибольшую активность в «Открытом поле», тогда как в 3 группе (1,7 мг/кг) наблюдалось угнетение поведенческих реакций. Во всех опытных группах отмечено предпочтение тёмной камеры и снижение ориентировочной активности, что указывает на повышенное эмоциональное напряжение. Спонтанная двигательная активность была угнетена на всём протяжении эксперимента, однако к 21 суткам зафиксировано её постепенное восстановление.*

Ключевые слова: *аспарагинат хрома, активность, поведение, лабораторные животные.*

Введение. Препараты тяжелых металлов, такие как свинец, хром, железо, кобальт, медь, ртуть, таллий, сурьма, способны накапливаться в организме, проникая через пищеварительную систему. Многие из этих препаратов, например, железо или кобальт, очень необходимы организму для его нормального функционирования, однако их содержание не должно превышать тысячной доли процента, а повышенное содержание их в результате высокой дозы поступления или постепенного накопления приводит к негативным последствиям.

На сегодняшний день, в связи с высокими темпами развития промышленной деятельности, очень велико наличие разнообразных удобрений для сельскохозяйственной деятельности, химических веществ, фармацевтических препаратов, а также промышленных отходов, загрязняющих окружающую среду, поэтому ксенобиотики встречаются практически везде, а значит, вероятность их попадания в организм всегда высокая.

В соответствии с вышесказанным, предполагаются комплексные исследования по оценке влияния препаратов ксенобиотиков на функциональную активность, поведение животных и обмен химических элементов.

Цель. Оценка эмоциональной, двигательной активности (горизонтальная двигательная активность, вертикальная двигательная активность) и ориентировочно-исследовательского поведения животных (крыс) при поступлении в организм аспарагината хрома.

Материалы и методы. Исследования проводили на 156 белых крысах-самцах линии Wistar массой 110-120 г. До начала эксперимента животные содержались в условиях ЦКП ФНЦ БСТ РАН на стандартной диете для лабораторных животных (ГОСТ Р 50258-92) согласно правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 3 51000.3-96 и 51000.4-96). Эксперименты проводились в соответствии с требованиями гуманного обращения с животными. Хром DS – содержание аспарагината хрома 0,2 мг.

Все животные были разделены на 4 группы (n=12), крысы 1, 2 и 3 групп получали аспарагинат хрома, в дозе 100% покрывающей потребность в данном элементе, 50% и 150% соответственно при этом концентрация составила 1,1; 0,6 и 1,7 мг/кг; животные из контрольной группы, находились на стандартной диете.

Взвешивание вещества производили на лабораторных весах MS105DU, заводской номер B 346986489, фирма-изготовитель «Metller Toledo», проверенные в соответствии с методикой проверки весов лабораторных MS.ML (Свидетельство о проверке № МТ-1014).

Хром, вводили per os в корм, животные находились на стандартной диете. Основные данные, полученные в исследованиях, были обработаны с использованием программ «Excel» и «Statistica 12,0». Оценку статистической значимости эффектов оценивали по U-критерию Манна-Уитни.

Эмоциональную, двигательную активность и ориентировочно-исследовательское поведение крыс исследовали в тесте «Открытое поле» и «Темная-светлая камера» на 7, 14 и 21 сутки. Подсчитывали количество различных поведенческих реакций: горизонтальная двигательная активность (ГДА) - число пересеченных квадратов по периферии, на 2/3 и в центре площадки; вертикальная двигательная активность (ВДА) – число вставаний на задние лапы; ориентировочно-исследовательская активность – число заглядываний в отверстия поля; эмоциональный фактор – количество фекальных болюсов; груминг – количество умываний, причесываний и других элементов ухода.

Спонтанную двигательную активность исследовали в системе «Инфракрасный актиметр в комплекте с системой Панель с отверстиями». Использовали систему инфракрасных лучей для детектирования движений животных, измеряющий количество лучей, разбивающихся на оси X и Y и число погружений животных в отверстия для оценки двигательной активности и стереотипных движений, а также исследования/любопытства (при помощи панели с отверстиями).

Результаты и обсуждение. Изменение поведенческой активности животных наглядно иллюстрируют результаты теста «Открытое поле».

При изучении горизонтальной двигательной активности в «открытом поле» на фоне дачи крысам хрома с кормом в дозах: 1 группа – 1,1 мг/кг, 2 группа – 0,6 мг/кг, 3 группа – 1,7 мг/кг было отмечено увеличение суммарной ГДА во всех исследуемых группах от 4 до 17,5 %, причём наибольший показатель отмечался в 1 опытной группе на 7 день эксперимента – 78,2±16,22, а наименьший в 3 группе – 69,3±6,38, после чего активность равномерно снижается к третьей неделе.

На этом фоне суммарная вертикальная двигательная активность крыс в 2 и 3 опытных группах к седьмому дню эксперимента была заметно ниже контрольных показателей – на 4,9 и 27,8 % соответственно. При этом 1 опытная группа крыс к 7 дню показала максимальную суммарную ВДА – 23,1±0,40 ($P \leq 0,01$), что выше показателей контрольной группы в 1,6 раза, после чего активность также равномерно снижается к третьей неделе.

При изучении груминга животных, установлено, что во всех группах к 7 дню, животные проявили максимальную активность, которая была выше контрольных значений: в 1 группе – в 1,5 раза; во 2 группе – в 1,63 раза и в 3 группе – 1,91 раза. К 14 дню эти показатели возросли в среднем по всем группам от 44,4 - 62,5 %, что согласуется с полученными данными от контрольной группы, а к 21 дню происходит резкое снижение значений как в опытных, так и в контрольной группе, но здесь следует отметить, что в 1 опытной группе животные не проводили груминг почти полностью – 0,1±0,01.

При изучении количества заглядываний животных в отверстия камеры открытого поля, была выявлена следующая закономерность – на 7 день эксперимента активность животных которым задавался с кормом хром была значительно ниже показателей контрольной группы: 1 группа – на 36,2 %; 2 группа – на 54,9 %; 3 группа – на 71,7 %. До 14 дня эксперимента эти показатели возрастали, но так и не достигли показателей контрольной группы, а к 21 дню снижались.

Количество актов дефекации наиболее часто отмечались у животных 1 опытной группы – 2,7±1,47 (в 1,58 раза выше значений контрольной группы), а наименьшее количество у животных 3 группы – 0,7±0,35 (в 2,4 раза ниже показателей контрольной группы) к 7 дню опыта, после чего эти значения остаются на том же уровне или незначительно снижаются к 21 дню во всех опытных группах.

Из описанного выше можно сделать следующее заключение, что при даче животным в указанных выше дозах хрома с кормом, отмечается наиболее активное изменение поведенческих показателей в камере открытого поля у животных 1 опытной группы, а наименьшая активность была описана у животных 3 группы.

В период тестирования поведения животных в тесте «Темная-светлая камера при введении ксенобиотиков синтетического происхождения (аспарагината Cr) отмечено, что животные контрольной группы охотнее находились в темной камере прибора, однако и достаточно активно находились и в светлой камере прибора и очень часто выглядывали из темной камеры, однако эта активность постепенно снижалась к 21 дню испытаний. Контрольные животные к 14 суткам эксперимента менее активно выходили в светлую часть прибора, что возможно говорит о процессах адаптации при повторном предъявлении теста.

В результате введения в рацион аспарагината хрома во всех изучаемых дозировках животные всех трех опытных групп наиболее предпочитали темную часть камеры, однако время нахождения в ней в сторону уменьшения изменялось с 7 суток к 21 суткам исследования (табл. 1). Следует отметить, что крысы 3 группы (1,7 мг/кг) на 21 сутки изучения на 13,4% находились дольше в светлой части камеры, чем контрольные животные. Крысы опытных групп значительно менее активно выглядывали из темной части прибора, эта активность возрастала лишь к 21 суткам.

На основании вышеизложенного следует сделать заключение, что животные при введении в их рацион аспарагината Cr, ввиду повышенного эмоционального напряжения более предпочитали закрытую темную часть камеры, с осторожностью и реже чем животные контроль выглядывали из нее. Животные же контрольной группы достаточно

Таблица 1.

Оценка поведения животных в тесте «Темная-светлая камера» при введении аспарагината хрома

Показатель	День	Группа			
		Контроль	1	2	3
Т (с) в темном поле	7	126,2±2,31	160,3±11,50	173,5±0,60***	150,1±4,33*
	14	151,5±6,06*	176,5±2,02*	142,4±1,41	147,7±15,88
	21	127,5±27,40***	160,3±1,73	137,1±5,77	110,4±28,87
Т(с) в светлом поле	7	54,0±2,31	20,1±11,51	7,5±2,59***	30,5±4,33*
	14	28,5±6,10**	3,5±2,02*	38,5±12,40	33,5±15,87
	21	52,5±27,40***	20,2±1,73	43,2±5,77	70,1±28,86
Число выглядываний	7	39,2±17,30***	7,3±2,08	7,2±0,57	6,2±0,57
	14	10,5±1,44	3,5±2,02	4,5±0,29*	2,1±0,58*
	21	3,0±1,15	4,5±0,28	6,5±0,86	4,5±0,86

*Примечание: достоверность различий показателей в XIII (контрольной) и опытных I - VI группах * - (p<0,05); ** - (p<0,01); *** - (p<0,001)*

активно выглядывали из темной части прибора и охотно находились как в темной так и в светлой камере, что свидетельствует о спокойном поведении животных.

Исследование с помощью системы «Инфракрасный актиметр» в комплекте с системой «Панель с отверстиями», включающее в себя автоматический подсчет числа пересечений животными инфракрасных лучей, разбивающихся на оси X и Y при движении.

При проведении данного теста животным, получившим аспарагинат хрома, отмечено угнетение двигательной активности во всех опытных группах относительно контроля на все сутки эксперимента. Однако следует отметить, что внутри опытных групп двигательная активность с 7 к 21 суткам постепенно активизируется (рисунок 1).

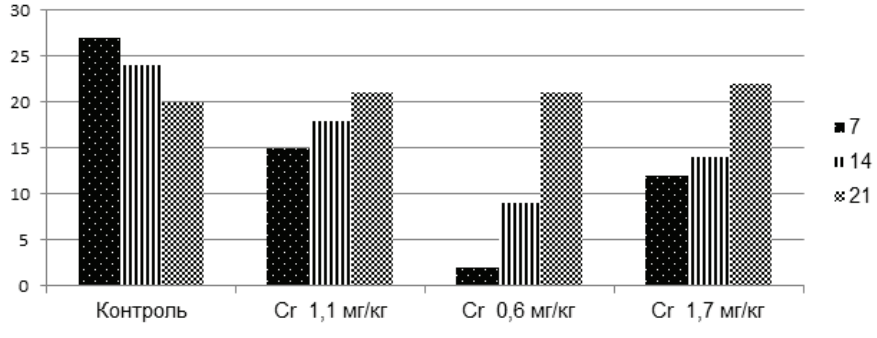


Рис.1.
Двигательная активность животных при введении аспарагината Cr

Заключение. В условиях теста «Открытое поле» отмечается наиболее активное изменение поведенческих показателей в камере у животных 1 опытной группы, а наименьшая активность была описана у животных 3 группы.

Анализ поведения животных в тесте «Темная-светлая камера» показал, что при введении ксенобиотиков синтетического происхождения (аспарагината Cr), ввиду повышенного эмоционального напряжения более предпочитали закрытую темную часть камеры, с осторожностью и реже чем животные контроль выглядывали из нее. Животные же контрольной группы достаточно активно выглядывали из темной части прибора и охотно находились как в темной так и в светлой камере, что свидетельствует о спокойном поведении животных. Исследование с помощью системы «Инфракрасный актиметр» в комплекте с системой «Панель с отверстиями», выявило угнетение двигательной активности во всех опытных группах относительно контроля на все сутки эксперимента. Однако следует отметить, что внутри опытных групп двигательная активность с 7 к 21 суткам постепенно активизируется

Выводы:

1. В тесте «Открытое поле» наибольшая поведенческая активность наблюдалась у животных 1 опытной группы, тогда как у животных 3 группы проявлялась наименьшая активность.

2. В тесте «Темная-светлая камера» животные, получавшие аспарагинат Cr, из-за повышенного эмоционального напряжения предпочитали находиться в темной части камеры и редко выходили в светлую, в отличие от спокойного и более активного поведения животных контрольной группы.

3. Система «Инфракрасный актиметр» выявила угнетение двигательной активности во всех опытных группах на протяжении всего эксперимента, однако с 7 по 21 сутки у этих животных отмечалось постепенное восстановление активности.

* * *

УДК: 616.831-005.4:577.21, 616-092

МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК КАК ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ НЕЙРОПРОТЕКЦИИ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОМ ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Щербак Н.С., Сучкова И.О., Паткин Е.Л.
Институт экспериментальной медицины,
Санкт-Петербург

Аннотация. *Перед клиницистами стоит острая проблема повышения эффективности терапии, направленной на предотвращение развития повреждений, вызванных ишемическим-реперфузионным повреждением головного мозга. В связи с этим является актуальным изучение адаптивных механизмов защиты, заложенных в самом организме в процессе эволюции, а также выявление молекулярных биомаркеров, участвующих в этих процессах и которые могут быть использованы в качестве потенциальных терапевтических мишеней при лечении инсульта. Одним из эндогенных защитных механизмов является ишемическое прекондиционирование. Цель работы – анализ научной литературы о влиянии ишемического прекондиционирования на метилирование ДНК в головном мозге. Показано, что сублетальное ишемическое воздействие влияет на метилом, в результате чего изменяется экспрессия генов, определяющих резистентность организма к ишемическому-реперфузионному повреждению головного мозга. Доказана связь метилирования ДНК с формированием ишемической толерантности при применении ишемического прекондиционирования.*

Ключевые слова: *метилирование ДНК, эпигенетика, ишемическое прекондиционирование, головной мозг, инсульт.*

Введение. Острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) остается одной из главных причин смертности и лидирует среди факторов, приводящих к инвалидности во всем мире [1]. Внедрение метода экстренной реваскуляризации церебральных артерий для лечения ОНМК снизило смертность, но, к сожалению, не привело к уменьшению уровня инвалидности среди таких пациентов. В клинической практике почти у половины пациентов с ОНМК лечение (внутривенный тромболизис и/или эндоваскулярная тромбэкстракция) оказывается неэффективным, даже если процедуры по восстановлению проходимости закупоренных артерий проходят успешно [2]. Во много это связано с тем, что ишемическое повреждение мозга, возникающее из-за недостаточного кровоснабжения, запускает сложный каскад биохимических процессов, что в конечном итоге приводит к гибели клеток. Восстановление кровотока сопровождается возникновением дополнительного реперфузионного повреждения, которое усугубляет поражение тканей головного мозга [3]. Тяжесть необратимого повреждения после восстановления кровотока определяется степенью повреждения, возникшего во время ишемии. Эти процессы неразрывно связаны, поэтому их объединяют в понятие «ишемическое-реперфузионное повреждение» (ИРП) [4].

Сложная структура головного мозга и разнообразие типов клеток создают серьёзные препятствия для полного раскрытия молекулярных процессов, происходящих при

ИРП. Ишемия различной длительности может вызывать активацию и/или подавление экспрессии генов и тем самым запускать каскад защитных и/или повреждающих реакций в клетке [5]. Современные молекулярно-генетические исследования, выполненные на различных моделях инсульта головного мозга у животных, выявили ключевую роль эпигенетических модификаций, в частности, метилирования ДНК, в процессах, связанных с ИРП [6, 7].

Научное направление, которое исследует различные способы и методы, обеспечивающие защитный эффект за счет блокирования механизмов повреждения нейронов, глии, сосудов головного мозга и/или стимулирования защитных механизмов, получило название нейропротекции [8]. В экспериментальных исследованиях было продемонстрировано, что нейропротективные субстанции, примененные в ранний период после восстановления кровоснабжения, значительно снижают размер инсульта головного мозга. Тем не менее, транслирование полученных результатов в клиническую практику не увенчалось успехом из-за неблагоприятных фармакокинетических характеристик препаратов, низкой биодоступности, токсичности эффективной дозы и серьёзных побочных эффектов [9].

В настоящее время одним из наиболее перспективных направлений в области нейропротекции считается активизация эндогенных защитных механизмов, которые сформировались в ходе эволюции и имеют генетическую основу. К эндогенным способам нейропротекции относят ишемическое прекондиционирование (ИПреК) головного мозга. Несмотря на существующие исследования, направленные на изучение защитных свойств ИПреК, причины, по которым головной мозг становится устойчивым к повреждениям, вызванным ишемией и последующей реперфузией, особенно при использовании ИПреК, до сих пор остаются недостаточно изученными [10].

Предполагается, что в реализации нейропротективного потенциала ИПреК головного мозга при ИРП задействованы эпигенетические механизмы, в том числе метилирование ДНК. Изучение эпигенетических механизмов формирования ишемической толерантности мозга при применении ИПреК позволит выявить новые молекулярные мишени для фармакологического вмешательства, а также разработать тест-системы для ранней диагностики ишемического инсульта и эффективности при персонификации терапии и реабилитации.

Цель исследования. Анализ современной научной литературы, посвященной изучению влияния ишемического прекондиционирования на метилирование ДНК при ишемическом-реперфузионном повреждении головного мозга.

Материалы и методы исследования. Поиск литературы проводили в электронных базах данных PubMed и eLibrary без введения каких-либо ограничений по дате публикации. Были использованы следующие ключевые слова: «ишемическое прекондиционирование» или «ischemic preconditioning», «головной мозг» или «brain», «эпигенетика» или «epigenetics», «метилирование ДНК» или «methylation DNA». Для анализа отбирали публикации, в которых оценивали влияние ИПреК на изменение уровня полногеномного метилирования ДНК или метилирование ДНК гена-кандидата при экспериментальном моделировании ИРП головного мозга. Исключали из анализа публикации, если они: 1) обзоры; 2) тезисы (доклады) конференций и симпозиумов; 3) содержали не относящиеся к теме результаты.

В процессе первичного анализа было обнаружено 52 публикации. После анализа заголовков и аннотаций из рассмотрения были исключены 43 статьи. Для анализа были выбраны 6 публикаций после тщательной проверки всего текста.

Результаты и обсуждение. ИПреК головного мозга – это процесс реализации врожденного нейропротективного механизма, при котором прекондиционирующие периоды ишемии, не приводящие к повреждению, повышают способность мозга противостоять последующему ишемическому повреждению, которое обычно приводит к гибели нейронов [10]. Нейропротективный эффект ИПреК связан с эпигенетическим перепрограммированием мозга. Это перепрограммирование изменяет фенотип мозга, делая его толерантным к ИРП. В результате профиль экспрессии генов в мозге, подвергшемся ИПреК, отличается от профилей в здоровом мозге и мозге, который пострадал от ишемии, что, например, было продемонстрировано на модели фокальной ишемии головного мозга у мышей [11]. Причем оказалось, что реакция мозга на повреждающую ишемию перепрограммируется прекондиционированием: вместо гибели клеток возникает нейропротективный фенотип. Это позволяет предположить, что при ИПреК головного мозга именно эпигенетические изменения, в частности метилирование ДНК, играют ключевую роль в перепрограммировании активности генов, которые отвечают за развитие и поддержание нейропротективных свойств [6, 7, 11]. В экспериментах in vivo [12, 13] и in vitro [14, 15, 16] было обнаружено, что применении ИПреК приводит к гипометилированию промоторов генов, продукты которых участвуют в нейропротекции.

Заключение. Ишемическая толерантность является результатом взаимодействия множества сигнальных путей, которые временно действуют сообща, изменяя активность эпигенетических ферментов и/или эпигеномный статус клеток головного мозга, что, в свою очередь, влияет на профиль экспрессии генов, обеспечивая нейропротекцию. Влияние на динамически изменяющийся эпигенетический профиль, способствующий активации или ингибированию определенных групп генов, может стать одним из эффективных методов терапии при ишемическом инсульте. Дальнейшие исследования, направленные на изучение эпигенетических механизмов выживания и гибели клеток при ишемическом-реперфузионном повреждении и опосредованной ИПреК толерантности нервной ткани могут открыть новую эру в исследованиях инсульта и постинсультной реабилитации пациентов.

Выводы. ИПреК вызывает нейропротективное перепрограммирование метилома. Сублетальная ишемия или гипоксия приводят к быстрым и/или долговременным изменениям метилирования ДНК, которые модулируют транскрипционный профиль ряда генов, участвующих в сигнальных путях, реализующих нейропротективный потенциал организма.

Список литературы:

1. *Benjamin E.J., Blaha M.J., Chiuve S.E. et al. Heart disease and stroke statistics-2017 update: A report from the American Heart Association // Circulation. – 2017. – Vol. 135. –e146-e603.*
2. *Moskowitz M.A., Lo E.H., Iadecola C. The science of stroke: Mechanisms in search of treatments // Neuron. – 2010. – Vol. 67. – P. 181-198.*
3. *Eltzschig H.K., Eckle T. Ischemia and reperfusion–from mechanism to translation // Nat. Med. – 2011. – Vol. 17. – P. 1391–1401.*

4. *Nie X., Leng X., Miao Z. et al. Clinically ineffective reperfusion after endovascular therapy in acute ischemic stroke // Stroke. – 2023. – Vol. 54. – № 3. – P. 873–881.*
5. *Papadopoulos M.C., Giffard R.G., Bell B.A. An introduction to the changes in gene expression that occur after cerebral ischaemia // Br. J. Neurosurg. 2000. – Vol. 14. – № 4. –P. 305-312.*
6. *Щербак Н.С., Сучкова И.О., Паткин Е.Л., Вознюк И.А. Метилирование ДНК при экспериментальном ишемическом повреждении головного мозга // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2022. – Т. 122. – № (8-2). – С. 32-40.*
7. *Щербак Н.С., Сучкова И.О., Дергачева Н.И. и др. Изменение уровня полногеномного метилирования ДНК в различных областях головного мозга крыс при неполной церебральной ишемии // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски. – 2023. – Т. 123. – № (3-2). – С. 26-32.*
8. *Jain KK. Role of biological therapies in the development of personalized medicine // Expert Opin Biol Ther. – 2012. – Vol. 12. – № 1. – P. 1-5.*
9. *Tymianski M. Emerging mechanisms of disrupted cellular signaling in brain ischemia // Nat Neurosci. – 2011. – Vol. 14. – № 11. – P. 1369-1373.*
10. *Шляхто Е.В., Баранцевич Е.Р., Щербак Н.С., Галагудза М.М. Молекулярные механизмы формирования ишемической толерантности головного мозга. Часть 1. // Вестн. Росс. акад. мед. наук. – 2012. – № 6. – С. 42-50.*
11. *Stenzel-Poore M.P., Stevens S.L., Xiong Z. et al. Effect of ischaemic preconditioning on genomic response to cerebral ischaemia: similarity to neuroprotective strategies in hibernation and hypoxia-tolerant states // Lancet. – 2003. – Vol. 362. – P. 1028-1037.*
12. *Cai M., Zhu Y., Li Z., et al. Profiling the gene expression and DNA methylation in the mouse brain after ischemic preconditioning // Neuroscience. – 2019. – Vol. 406. P. 249-261.*
13. *Belmonte K.C.D., Harman J.C., Lanson N.A. et al. Intra- and intergenerational changes in the cortical DNA methylome in response to therapeutic intermittent hypoxia in mice // Physiol Genomics. – 2020. – Vol. 52. – № 1. – P. 20-34.*
14. *Meller R., Pearson A., Simon R.P. Dynamic changes in DNA methylation in ischemic tolerance // Front Neurol. – 2015. – Vol. 6. – P. 102.*
15. *Hartley I., Elkhoury F.F., Heon Shin J. et al. Long-lasting changes in DNA methylation following short-term hypoxic exposure in primary hippocampal neuronal cultures // PLoS One. – 2013. – Vol. 8. – № 10. – e77859.*
16. *Hu C.J., Chen S.D., Yang D.I. et al. Promoter region methylation and reduced expression of thrombospondin-1 after oxygen-glucose deprivation in murine cerebral endothelial cells // J Cereb Blood Flow Metab. – 2006. – Vol. 26. – № 12. – P. 1519-1526.*





Всероссийская научно-практическая
конференция с международным участием

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

приурочена к юбилею
академика РАН Софронова Г.А.

ТЕЗИСЫ

ПРОТОЧНАЯ ЦИТОМЕТРИЯ КАК ИНСТРУМЕНТ ФЕНОТИПИРОВАНИЯ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ: ПЕРСПЕКТИВЫ В ДИАГНОСТИКЕ ИММУНООПОСРЕДОВАННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Акино А.Д., Головкин А.С.

Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова
Санкт-Петербург

Актуальность. Внеклеточные везикулы (ВВ) – мембранные наноразмерные объекты, участвующие в межклеточной коммуникации и различных физиологических и патологических процессах.

Цель. Целью исследования являлся анализ ВВ плазмы крови методом высокочувствительной проточной цитометрии у пациентов с COVID-19 (n=13), аксиальным спондилоартритом (n=41) и после трансплантации сердца (n=34 с отторжением трансплантата и n=31 без него), а также оценка диагностической значимости метода.

Материалы и методы. Иммунофенотипирование ВВ проводили с использованием моноклональных антител, конъюгированных с флюорохромами. Фенотипирование ВВ выполняли на проточном цитометре Cytoflex S (Beckman Coulter, США) с калибровкой при помощи набора субмикронных частиц. Обнаружение ВВ проводили по боковому светорассеянию от фиолетового лазера 405 нм и в соответствующих флуорохромных каналах. Анализ данных осуществляли с помощью программы Kaluza 2.1. При сравнении выборок использовался непараметрический критерий Манна-Уитни. Различия считались значимыми при $p < 0,05$. У пациентов с острым COVID-19 выявлено достоверное снижение ВВ, экспрессирующих HLA-DR+ (234 (158; 349)) и CD45+ (93 (80; 104)) по сравнению с контрольной группой (662 (444; 1084) и 560 (204; 1476), соответственно), а также увеличение уровня ВВ, экспрессирующих CD63+ (255 (227; 400)) и CD82+ (750 (618; 890)) по сравнению со здоровыми донорами (60 (55; 81) и 110 (61; 278), соответственно).

Результаты и обсуждение. В период реконвалесценции наблюдалось повышение уровней CD4+ и CD9+ ВВ (1035 (406; 8367) и 15025 (10810; 18725)) по сравнению со здоровыми донорами (27 (14; 105) и 6303 (2982; 9504), соответственно). При аксиальном спондилоартрите отмечено достоверное увеличение уровней CD3+ и CD19+ ВВ по сравнению с группой контроля (282 (197; 1210) против 39 (31,75; 69,25) и 177 (55; 420) против 13 (4,750; 26,50), соответственно), а также увеличение ВВ, экспрессирующих HLA-ABC и HLA-DR (4088 (1937; 11810) против 2340 (1820; 3708) и 4799 (1763; 20420) против 827 (265,3; 2721), соответственно). У пациентов в период от 1 до 5 лет после трансплантации сердца наблюдалось увеличение уровня CD41b+ ВВ при гуморальном отторжении и CD81+ ВВ при клеточном отторжении по сравнению с пациентами без отторжения трансплантата.

Выводы. Результаты исследования позволяют рассматривать анализ внеклеточных везикул методом проточной цитометрии как потенциальный инструмент оценки иммуноопосредованных состояний.

* * *

ОСТЕОИНТЕГРАЦИЯ И НЕООСТЕОГЕНЕЗ У КРЫС С МОДЕЛИРОВАННЫМ СКВОЗНЫМ ДЕФЕКТОМ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ, ЗАПОЛНЕННЫМ АЛЛОТРАНСПЛАНТАТОМ С/БЕЗ ОБРАБОТКОЙ РАСТВОРОМ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ ИЗ ФИБРОБЛАСТОВ

Альтаххан Я.Х.М.[1], Орлов А.А.[1,2], Ганьшин И.Б.[1]
[1]Медицинский институт Российский университет дружбы народов,
[2]Научно-исследовательский институт
общей патологии и патофизиологии,
г. Москва

Цель. Изучить влияние коммерческого препарата экзосом из фибробластов на активность неоостеогенеза у крыс при смоделированном костном дефекте нижней челюсти.

Материал и методы. Экспериментальные исследования проведены на молодых самцах крыс с моделированным сквозным дефектом нижней челюсти, замещенным костным цементом Norian® Drillable (США). Животным основной группы (n=30) на имплантат наносили препарат экзосом «EXO ONE» (Южная Корея) 50 мкл, а также на 7, 14, 21 сутки вводили 100 мкл препарата экзосом в область имплантата.

Результаты и обсуждение. В экспериментальном исследовании обработка экзосомами в основной группе значительно ускорила процессы остеоинтеграции: на 30-е сутки в основной группе уже наблюдались признаки активного остеогенеза с участками новообразованной костной ткани, тогда как в группе сравнения процесс был на начальном уровне; к 120-м суткам в основной группе степень шел более активный остеогенез по сравнению с контрольной группой.

Вывод. Таким образом использование экзосом из фибробластов кожи может стать перспективным методом стимуляции остеогенеза в челюстнолицевой и пластической хирургии, ускоряя образование костной ткани после аллоимплантации костного цемента в зону дефекта костной ткани. Прослеживается цепочка: фибробласты кожи выделяют везикулы с биологически активным грузом, которые попадая в костную, подстёгивают её регенерацию, а ГК выступает помощником и не только создает и поддерживает среду, но и помогает целенаправленно и пролонгированно доставить данные везикулы туда, где они нужнее всего.

Список литературы:

1. *Biswas S, Gangadaran P, Dhara C, Ghosh S, Phadikar SD, Chakraborty A, Mahajan AA, Mondal R, Chattopadhyay D, Banerjee T, et al. Extracellular Vesicles in Osteogenesis: A Comprehensive Review of Mechanisms and Therapeutic Potential for Bone Regeneration. Current Issues in Molecular Biology. 2025; 47(8):675. https://doi.org/10.3390/cimb47080675*
2. *Ma, L.; Ke, W.; Liao, Z.; Feng, X.; Lei, J.; Wang, K.; Wang, B.; Li, G.; Luo, R.; Shi, Y.; et al. Small Extracellular Vesicles with Nanomorphology Memory Promote Osteogenesis. Bioact. Mater. 2022, 17, 425–438.*

3. *Ravi Mythili, V.M.; Rajendran, R.L.; Arun, R.; Thasma Loganathbabu, V.K.; Reyaz, D.; Nagarajan, A.K.; Ahn, B.-C.; Gangadaran, P. Emerging Strategies for Revascularization: Use of Cell-Derived Extracellular Vesicles and Artificial Nanovesicles in Critical Limb Ischemia. Bioengineering 2025, 12, 92.*
4. *Диланян М.Х., Новикова Н.И., Орлов А.А., et al. Морфологическое исследование динамики замещения костного цемента Norian CRS® Fast Set™ de novo костной тканью на модели направленной остеоинтеграции нижней челюсти у крыс CD. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2012; 56(4): 113–116. Accessed June 26, 2026 https://pfiet.ru/article/view/5363*
5. *Diehl, D., Kabst, V., Bürgel, T. et al. Hyaluronic acid promotes biomineralization of osteoblast-like cells – observations on two different barrier membranes. Int J Implant Dent 11, 58 (2025). https://doi.org/10.1186/s40729-025-00646-2*
6. *Gunther K.P., H.-P. Scharf and W. Puhl, Osteointegration einer Trikalziumphosphatkeramik und unterschiedlich kon-servierter Knochentransplantate im Tierexperiment, Hefte zu "der Unfallchirurg", Biodegradierbare Implantate und Ma-terialien 265 (1998), 285–294.*
7. *Knaack D., M.E. Goad, M. Aiolova, C. Rey, A. Tofighi, P. Chakravarthy and D.D. Lee, Resorbable calcium phosphatebone substitute, J. Biomed. Mater. Res. 43 (1998), 399–409*
8. *Oberle A., F. Theis, M. Bohner, J. Müller, Ch. Frei, I. Boecken, J.A. Auer and B. von Rechenberg, In vivo comparison oftwo hydraulic calciumphosphate cements in a drill hole model in sheep, Eu. Cell. Mater. J. 5(2003), 2*
9. *Niedhart, C., Maus, U., Miltner, O., Gräber, H.G., Niethard, F.U. and Siebert, C.H. (2004), The effect of basic fibroblast growth factor on bone regeneration when released from a novel in situ setting tricalcium phosphate cement. J. Biomed. Mater. Res., 69A: 680-685. https://doi.org/10.1002/jbm.a.30037*
10. *Meyer S, Floerkemeier T, Windhagen H. Histological osseointegration of a calciumphosphate bone substitute material in patients. Biomed Mater Eng. 2007;17(6):347-56. PMID: 18032816.*

✶ ✶ ✶

НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА АНТИОКСИДАНТОВ И МОДУЛЯТОРОВ МЕТАБОЛИЗМА: ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Аметов Э.Н.

Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского, Симферополь

Нейродегенеративные заболевания (НДЗ) характеризуются прогрессирующей потерей нейронов и нарушением функций ЦНС. Их патогенетические звенья включают окислительный стресс, митохондриальную дисфункцию и метаболические нарушения. Существующие методы лечения преимущественно симптоматические и не останавливают прогрессирование. Данная работа посвящена анализу нейропротекторных свойств антиоксидантов и модуляторов метаболизма как перспективных агентов для комплексной терапии НДЗ.

Изучение нейропротекторных эффектов проводится с использованием существующих данных in vitro моделей, in vivo исследований на различных животных моделях НДЗ, а также клинических испытаний. Методы оценки включали измерение уровня активных форм кислорода (АФК), активности антиоксидантных ферментов, определение митохондриальной функции , анализ экспрессии генов и белков, гистопатологические исследования и поведенческие тесты.

Антиоксиданты снижают уровень АФК, уменьшают перекисное окисление липидов, повреждение белков и ДНК. Они активируют эндогенные антиоксидантные системы, уменьшают гибель нейронов и подавляют нейровоспаление, улучшая синаптическую пластичность в доклинических моделях.

Модуляторы метаболизма улучшают митохондриальную функцию, биогенез митохондрий, оптимизируют энергетический баланс клеток. Они способствуют аутофагии, удалению поврежденных органелл и агрегированных белков, а также могут снижать глутаматную эксайтотоксичность. В исследованиях показано улучшение когнитивных и двигательных функций, замедление нейродегенеративных процессов. Комбинированные подходы часто демонстрируют синергетические нейропротекторные эффекты.

Антиоксиданты и модуляторы метаболизма представляют собой перспективный класс нейропротекторных агентов, способных влиять на ключевые патогенетические механизмы НДЗ. Их способность снижать окислительный стресс и оптимизировать клеточный метаболизм делает их потенциально эффективными компонентами комплексной терапии. Необходимы дальнейшие тщательно спланированные клинические исследования для определения оптимальных дозировок и режимов применения, что позволит интегрировать эти подходы в современную клиническую практику.

* * *

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЭНДОКРИННОЙ ДЕСТРУКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ СТОЙКИМИ ОРГАНИЧЕСКИМИ ЗАГРЯЗНИТЕЛЯМИ: ВЛИЯНИЕ НА РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ И МЕТАБОЛИЗМ

Аметов Э.Н.

Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского, Симферополь

Актуальность. Стойкие органические загрязнители (СОЗ) представляют собой класс повсеместно распространенных экологических токсикантов, характеризующихся липофильностью, устойчивостью к деградации и способностью к биоаккумуляции. Многие СОЗ являются известными эндокринными разрушителями (ЭР), способными вмешиваться в синтез, секрецию, транспорт, связывание, действие или элиминацию естественных гормонов.

Цель. Систематизация и анализ молекулярных механизмов, лежащих в основе эндокринной деструкции, индуцированной СОЗ, с акцентом на репродуктивную и метаболическую системы.

Материалы и методы. Для изучения молекулярных механизмов воздействия СОЗ используются разнообразные подходы, включающие данные in vitro эксперименты на культурах клеток, in vivo исследования на животных моделях, а также эпидемиологические исследования в когортах людей. Молекулярно биологические методы включали анализ экспрессии генов, определение уровня белков, количественную оценку гормонов, изучение связывания с рецепторами, а также анализ эпигенетических модификаций.

Результаты и обсуждение. СОЗ оказывают многогранное воздействие на эндокринную систему. В отношении репродуктивной функции выявлено их влияние на стероидогенез, нарушение активности половых гормональных рецепторов в качестве агонистов или антагонистов, и дисрегуляцию гипоталамо-гипофизарно гонадной оси. Это приводит к снижению качества гамет, нарушению овуляции, сперматогенеза и фертильности, ассоциируясь с риском эндометриоза, синдрома поликистозных яичников и преждевременной менопаузы. В контексте метаболизма, СОЗ нарушают сигналинг тиреоидных гормонов, гомеостаз глюкозы и липидов, стимулируют адипогенез, вызывают инсулинорезистентность и митохондриальную дисфункцию.

Выводы. Исследования убедительно демонстрируют, что стойкие органические загрязнители являются мощными эндокринными разрушителями, которые через разнообразные и сложные молекулярные механизмы существенно влияют на репродуктивное здоровье и метаболический гомеостаз. Понимание этих механизмов критически важно для разработки стратегий по снижению экспозиции, превентивных мер и эффективных терапевтических подходов для смягчения их пагубного воздействия на здоровье человека. Дальнейшие исследования необходимы для полного раскрытия долгосрочных последствий и комплексных взаимодействий СОЗ с эндокринной системой.

* * *

РОЛЬИ ИММУННОГО МИКРООКРУЖЕНИЯ В ПРОТИВОВИРУСНОМ ОТВЕТЕ

Аметов Э.Н.
Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского, Симферополь

Противовирусный ответ – сложная система, где эффективность элиминации патогена определяется не только иммунными клетками, но и характеристиками окружающего микроокружения.

Иммунное микроокружение, включающее стромальные клетки, внеклеточный матрикс и метаболические факторы, играет ключевую роль в модуляции функций иммунных клеток и исходе вирусной инфекции.

Изучение роли иммунного микроокружения учеными проводится комплексными подходами: *in vitro* модели (ко-культуры иммунных и стромальных клеток, 3D-модели), in vivo модели вирусных инфекций (трансгенные мыши, модели острой/хронической инфекции). Методы включают одноядерное РНК-секвенирование, пространственную транскриптомику, метаболомику, проточную цитометрию, конфокальную микроскопию, а также биохимические анализы для оценки метаболических изменений и сигнальных путей.

Взаимодействие иммунных клеток со стромой и метаболическими факторами критически регулирует противовирусный ответ. Стромальные клетки (фибробласты, эндотелиальные) секретируют цитокины/хемокины, влияя на рекрутинг, дифференцировку и выживаемость лимфоцитов, макрофагов и дендритных клеток. Метаболическое репрограммирование, индуцированное вирусной инфекцией и активацией иммунных клеток (напр., усиление гликолиза в активированных Т-клетках), необходимо для реализации эффективных эффекторных функций.

Дисрегуляция этих взаимодействий может приводить к иммунной толерантности, истощению, хронизации инфекции или развитию иммунопатологии. Например, определенные метаболические профили микроокружения способствуют истощению Т-клеток при хронических вирусных инфекциях.

Иммунное микроокружение – важнейший регулятор противовирусного ответа, определяющий его силу, продолжительность и исход. Понимание сложного взаимодействия иммунных клеток, стромы и метаболических факторов открывает новые терапевтические возможности для усиления противовирусного иммунитета, предотвращения хронизации инфекций и снижения иммунопатологии. Дальнейшие исследования в этой области необходимы для разработки инновационных стратегий.

* * *

МЕХАНИЗМЫ РАССТРОЙСТВ ПОВЕДЕНИЯ ПОТОМСТВА ОТ МАТЕРЕЙ, ПЕРЕЖИВШИХ ВИТАЛЬНЫЙ СТРЕСС

Апраксина Н.К.[1], Сучкова И.О.[2], Дергачёва Н.И.[2], Цикунов С.Г.[2], Паткин Е.Л.[2]

[1]Институт экспериментальной медицины,
[2]Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург

Витальный стресс, перенесённый матерью до беременности, является фактором риска нарушений психоэмоционального и когнитивного развития потомства. Эпидемиологические данные указывают на повышенную частоту тревожных расстройств, депрессии и ПТСР у детей, рожденных матерями с ПТСР. Однако молекулярные и нейробиологические механизмы этой трансгенерационной передачи остаются не до конца изученными.

Цель. Изучить поведенческие, нейрохимические и эпигенетические механизмы, опосредующие влияние материнского витального стресса на формирование расстройств поведения у потомства на модели витального стресса.

Материалы и методы. Все процедуры с животными выполнялись с соблюдением международных принципов и правил Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов. Опыты выполнены на самках крыс Wistar (7 мес) и их потомстве. Животные были разделены на группы: самки матери (n=20): «Контроль» и «Витальный стресс»; потомство (n=60): от интактных самок (F1C), потомство от самок с психической травмой (F1VS). Психическую травму моделировали обстоятельствами переживания ситуации гибели сородича от действий хищника и угрозой собственной жизни в течение 60 минут. У самок матерей на разных сроках гестации, а также у эмбрионов стрессированных самок оценивали уровень полногеномного метилирования ДНК, степень компактизации хроматина в клетках костного мозга и лейкоцитах крови. У потомства крыс проводили оценку формирования сенсорно-двигательных рефлексов, а также показателей поведения в тесте «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт». Уровень кортикостерона у самок матерей и их потомства определяли методом ИФА.

Статистическую обработку проводили с помощью ANOVA с последующим применением post-hoc теста Тьюки (уровень значимости: $p < 0,05$), а также критериями Краскела–Уоллиса с последующим апостериорным сравнением критерием Данна (уровень значимости: $p < 0,05$).

Результаты. Потомство от матерей с психической травмой в ранний постнатальный период характеризовалось отставанием в развитии по сравнению с контролем. Кроме того, психоневрологический статус потомства F1VS отличался от контроля более поздним сроком формирования сенсорных рефлексов и тонкой моторики. В «ОП» травмированные крысята демонстрировали угнетение в двигательной сфере, снижение исследовательской активности и эмоциональную напряженность в сравнении с F1C. Обнаружено нарушение в функционировании ГГНС, а также изменение эпигеномного статуса в период эмбриогенеза у травмированного потомства.

Ключевым механизмом трансгенерационной передачи эффектов витального стресса может выступать эпигенетическое перепрограммирование генов стресс-реактивности. У самок матерей, переживших витальный стресс, выявлен нелинейный характер динамики эпигеномных изменений на протяжении всей беременности, который сохранялся в течение двух месяцев после травмы. Измененный эпигеномный статус матерей сопровождался угнетением в двигательной сфере, исследовательском поведении, повышенной тревожностью в «ОП» и «ПКЛ», а также нарушением активности ГГНС.

Выводы. Таким образом, витальный стресс матери, перенесенный за месяц до зачатия, вызывает стойкие поведенческие нарушения у потомства. Эпигенетические изменения, выявленные во время беременности у самок крыс с психогенной травмой, могут служить предикторами психоневрологических расстройств у крысят, что обосновывает перспективность ранней диагностики эпигенетических маркеров и разработки таргетной терапии психоневрологических нарушений у травмированного потомства.

* * *

ПЕРСИСТИРУЮЩЕЕ УРЕМИЧЕСКОЕ ВОСПАЛЕНИЕ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ У БОЛЬНЫХ ХПН

Ахмедов С.О., Зокиров Б.Б.
Ташкентский государственный медицинский университет, Ташкент, Узбекистан

Хроническая почечная недостаточность (ХПН), соответствующая поздним стадиям хронической болезни почек, сопровождается накоплением связанных с белками уремических токсинов, хроническим воспалением, оксидативным стрессом и эндотелиальной дисфункцией. Трансплантация восстанавливает выделительную функцию почки, но не всегда устраняет уремический фенотип. Актуальной проблемой остается персистирование воспаления после операции и его влияние на сосудистый риск и долговечность аллотрансплантата. Цель работы — обобщить механизмы этого состояния и оценить его клиническое значение.

Проведен целевой аналитический обзор рекомендаций KDIGO и публикаций PubMed 2020–2025 гг. по ключевым словам: ХБП, уремические токсины, воспаление, эндотелиальная дисфункция, трансплантация почки. Анализировали клинические и экспериментальные исследования биомаркеров, сосудистой функции и исходов трансплантата.

При ХПН индоксилсульфат активирует AhR/NF-κB-сигналинг, а р-крезилсульфат и триметиламин-N-оксид усиливают оксидативный стресс; итогом становится снижение биодоступности оксида азота. После трансплантации уровни токсинов падают, однако неполное восстановление фильтрации и канальцевой секреции, дисбиоз, ишемически-реперфузионное повреждение и нефротоксичность ингибиторов кальциневрина поддерживают воспаление. У 27 реципиентов через два года жесткость сосудов снизилась, но эндотелиальная функция ухудшилась; исходный индоксилсульфат независимо предсказывал ее нарушение (Hobson и соавт., 2023). В когорте 403 пациентов его накопление было связано с большей экспозицией такролимуса, что указывает на взаимодействие уремии и иммуносупрессии (André и соавт., 2022). Среди 699 больных верхний квартиль суммарного показателя воспаления через 10 недель после операции ассоциировался с утратой трансплантата: отношение рисков 3,19 (Heldal и соавт., 2023). Ключевыми эффекторами являются активация моноцитов и комплемента, IL-6, TNF-α, микрососудистое повреждение и тубулоинтерстициальный фиброз.

Таким образом, трансплантация не означает мгновенного прекращения системных патофизиологических процессов ХПН. Персистирующее уремическое воспаление следует рассматривать как самостоятельную мишень наблюдения наряду с функцией трансплантата. Перспективны динамическая оценка токсинов и воспалительных панелей, коррекция дисбиоза и защита эндотелия, но их влияние на выживаемость трансплантата требует проспективной проверки.

* * *

МОДЕЛИРОВАНИЕ РИСКОВАННОГО ВЫБОРА У КРЫС ПРИ ВНУТРИМОЗГОВОЙ САМОСТИМУЛЯЦИИ

Балаганский И.А.[1], Пюрвеев С.С.[1], Лебедев А.А.[1], Радеева А.В.[2], Шабанов П.Д.[1], Довженко Д.Ю.[2], Некрасов М.С.[1]

[1]Институт экспериментальной медицины,
[2]Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург

Нарушения работы системы вознаграждения играют важную роль в формировании зависимого поведения. Одним из его проявлений может быть склонность выбирать менее предсказуемое подкрепление. Внутримозговая самостимуляция позволяет воспроизводить подобный выбор у лабораторных животных и исследовать его связь с дофаминовой системой. Целью работы было оценить возможности разработанной модели для изучения рискованного выбора у крыс, в том числе при частичном нокауте гена транспортера дофамина (DAT-HET). Основные результаты ранее опубликованы (Балаганский и соавт., 2025; Lebedev et al., 2026).

При апробации комплекса крыс Wistar обучали двухпедальной реакции внутримозговой самостимуляции. Нажатие одной педали обеспечивало подкрепление по фиксированному и предсказуемому правилу, тогда как при выборе второй педали подкрепление подавалось с определенной вероятностью. Такая процедура позволяла сопоставлять поведение в условиях определенности и неопределенности. Разработанная программа управляла экспериментом и автоматически регистрировала нажатия, получение подкрепления и последовательность выбора. В отдельном исследовании аналогичный протокол применили для сравнения крыс дикого типа и DAT-HET.

При апробации модели крысы Wistar осваивали реакцию самостимуляции в течение 1–7 экспериментальных сессий. Уменьшение вероятности подкрепления сопровождалось смещением выбора в сторону педали с фиксированным режимом, что подтверждало чувствительность поведения к степени неопределенности. Анализ отдельных экспериментальных сессий показал, что у DAT-HET относительная доля ответов на педаль с вероятностным подкреплением была выше, чем у животных дикого типа. При этом группы не различались по общему количеству нажатий и фактической плотности полученного подкрепления. Следовательно, преобладание ответов в вероятностном режиме отражало особенности организации выбора и не объяснялось только общей двигательной активностью или большей доступностью стимуляции.

Предложенный подход позволяет оценивать выбор между предсказуемым и вероятностным подкреплением и отделять его от общего уровня активности животного. Сочетание внутримозговой самостимуляции с автоматической регистрацией реакций дает возможность исследовать участие дофаминовой системы в мотивации и поведении в условиях неопределенности. Полученные данные подтверждают перспективность применения DAT-HET для изучения особенностей рискованного выбора и возможной предрасположенности к зависимому поведению.

* * *

ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ СОСТАВ МИКРОБИОТЫ МОКРОТЫ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЕГКОГО

Баранова Е.Д., Дружинин В.Г.
Кемеровский государственный университет, Кемерово

Рак лёгкого остаётся одной из ведущих причин смертности от онкологических заболеваний в мире. Известно, что бактериальная микробиота человека способна индуцировать окислительный стресс и повреждать ДНК клеток хозяина, задерживая репликацию и снижая эффективность репарации. Однако у больных раком лёгкого состав микробиоты лёгких и его связь с этими эффектами практически не изучены. В работе определён таксономический состав микробиоты мокроты у больных раком лёгкого в сравнении с контролем и оценена его связь с клиническими характеристиками опухоли и хромосомной нестабильностью лимфоцитов крови.

Бактериальный состав мокроты и уровень хромосомных повреждений были изучены у 133 больных раком лёгкого и 110 лиц контрольной группы, сопоставимых по полу и возрасту. Амплификацию и секвенирование региона V3-V4 гена 16S рРНК проводили согласно протоколу Illumina «Preparing 16S Ribosomal RNA Gene Amplicons for the Illumina MiSeq System», таксономическую аннотацию проводили с использованием баз данных SILVA и GreenGenes, дифференциально представленные таксоны выявляли методами LEfSe и ANCOM-BC. Хромосомные аберрации и микроядерный тест лимфоцитов крови оценивали классическими цитогенетическими методами.

У больных раком лёгкого выявлено снижение α-разнообразия (индекс Шеннона) независимо от гистологического типа опухоли ($p < 0,05$). Различия β-разнообразия значимы (PERMANOVA, $p \leq 0,0002$; $R^2 = 1,96–2,91\%$) и наиболее выражены при плоскоклеточном раке. Ведущим изменением стало смещение линии *Firmicutes* → *Bacilli* → *Lactobacillales* → *Streptococcaceae* → *Streptococcus*. Представленность рода *Streptococcus* достигала 28,2% против 20,5% в контроле ($p < 0,05$). Наибольший вклад в вариабельность состава микробиоты внесли пол пациента ($R^2 = 7,1–8,0\%$; $p = 0,001$), сторона поражения (правое/левое лёгкое), вовлечение регионарных лимфатических узлов и стадия заболевания. У больных раком лёгкого частота хромосомных аберраций и микроядер в лимфоцитах крови более чем вдвое превышала показатели контроля. Установлена значимая положительная корреляция между представленностью *Bacteroides* (преимущественно *B. nordii*) и частотой хромосомных аберраций, наиболее выраженная при аденокарциноме лёгкого.

Результаты свидетельствуют об устойчивой связи микробиоты мокроты с раком лёгкого, а также о возможной связи выявленных таксонов с генотоксическими эффектами.

* * *

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ПРИВИЛЕГИЯ ГЛАЗА И ЕЕ ПЕРЕСТРОЙКА ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Бахтиярова З.Д.
Левобережный Карасу, Ташкент

Актуальность. Иммунологическая привилегия глаза представляет собой комплекс механизмов, ограничивающих чрезмерную воспалительную реакцию и обеспечивающих сохранение зрительной функции. Она поддерживается гематоофтальмическими барьерами, локальными иммунорегуляторными факторами, взаимодействием регуляторных иммунных клеток и механизмами системной толерантности. Современные данные свидетельствуют, что иммунологическая привилегия является динамическим и условным состоянием и при патологических процессах не утрачивается полностью, а подвергается частичной перестройке.

Цель. Систематизировать современные представления об иммунологических механизмах нарушения иммунологической привилегии глаза при воспалительных и дегенеративных заболеваниях и определить основные патогенетические варианты иммунного ответа. Проведён анализ данных современной научной литературы, посвящённых роли врождённого и адаптивного иммунитета, гематоретинальных барьеров, микроглии, системы комплемента и Т-лимфоцитов в развитии заболеваний глаза.

Результаты и обсуждение. Установлено, что характер перестройки иммунологической привилегии различается в зависимости от заболевания. При возрастной макулярной дегенерации ведущую роль играет хроническая активация системы комплемента и микроглии с развитием паравоспаления и последующим нарушением наружного гематоретинального барьера. При диабетической ретинопатии преобладают повреждение внутреннего гематоретинального барьера, лейкостаз и усиление нейроваскулярного воспаления. При пигментном ретините дегенерация фоторецепторов инициирует активацию микроглии и системы комплемента, которая на поздних этапах может сопровождаться вовлечением адаптивного иммунитета. При неинфекционном увеите наиболее выражен Т-клеточно-опосредованный механизм с участием Th1/Th17-клеток и нарушением гематоретинального барьера. Таким образом, выявляются три взаимосвязанных варианта нарушения иммунологической привилегии: нарушение барьерной функции, дисрегуляция врождённого иммунитета и активация аутоиммунных механизмов.

Выводы. Иммунологическая привилегия глаза представляет собой активно регулируемую систему, способную к перестройке в ответ на патологические воздействия. Выявление преобладающего иммунопатогенетического механизма при конкретном заболевании создаёт предпосылки для разработки более направленных методов иммуномодулирующей терапии и стратегий восстановления локальной иммунной регуляции.

* * *

КОРРЕЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ МАРКЕРОВ В КЛЕТКАХ ГЛИОБЛАСТОМЫ С ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ К КАТЕЛИЦИДИНУ LL-37, ПРОТЕГРИНУ PG-1 И ФАКТОРУ РОСТА НЕРВОВ NGF

Бацуури У.[1], Асиеду-Баах Н.[1], Чернов А.Н.[1,2], Кашуро В.А.[1], Шамова О.В.[2]
[1]Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет,
[2]Институт экспериментальной медицины,
Санкт-Петербург

Глиобластома (ГБМ) является одной из самых злокачественных и трудноизлечимых опухолей у человека. Низкая эффективность терапии ГБМ обусловлена ее высокой молекулярной и клеточной гетерогенностью, а также нарушением биохимических и патофизиологических механизмов между опухолью и клетками нервной системы, включая пептиды кателицидин LL-37, протегрин-1 (PG-1) фактор роста нервов (NGF).

Цель. Установить ассоциации экспрессию белков p53, GFAP, ATRX, Ki-67, TF, PDPN и EGFR в культурах клеток ГБМ, полученных от пациентов с их чувствительностью к LL-37, PG-1 и NGF.

Материалы и методы. Клетки были выделены из биопсий ГБМ, полученных от пациентов (n=30), которые культивировали в течение 2 сут. Клетки обрабатывали различными дозами LL-37, PG-1 и NGF, для определения 50% ингибирующей концентрации (ИК50) с помощью МТТ-теста. Экспрессию белков p53, глиального фибриллярного кислого белка (GFAP), АТФ-геликазы хроматина (ATRX), антигена пролиферации (Ki-67), трансферрина (TF), подопланина (PDPN) и рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) в клетках ГБМ анализировали с помощью иммуногистохимического (ИГХ) окрашивания специфическими антителами. Ассоциации между этими белками и ОВ (ОПЖ) анализировали с помощью программы GraphPadPrism 8.0.

Результаты. Были определены статистически значимые корреляции между экспрессией TF (r= -0,556, p=0,04), EGFR (r=0,799, p=0,03) в клетках ГБМ и величиной ИК50 LL-37. Обнаружены корреляции между экспрессией белков Ki-67 (r=0,651, p=0,002) и TF (r=-0,899, p=0,004) в клетках ГБМ и ИК50 PG-1. Также установлены статистически значимые корреляции между экспрессией TF (r=-0,996, p=0,0001), EGFR (r=0,788, p=0,04) и Ki-67 (r=0,600, p=0,04) в клетках ГБМ и значениями ИК50 NGF.

Выводы. Наблюдаемые ассоциации между экспрессией белков Ki-67, EGFR и TF в клетках ГБМ и ИК50 пептидов и NGF могут указывать на участие данных белков в механизмах действия данных веществ на клетки ГБМ. В перспективе полученные зависимости могут быть использованы для разработки схемы таргетного воздействия препаратов при лечении пациентов с ГБМ.

* * *

ВЛИЯНИЕ 1-ДЕЗАМИНО-8-D-АРГИНИН-ВАЗОПРЕССИНА НА ПОВЕДЕНИЕ КРЫС В НОРМЕ И В ПОЗДНЕМ ПЕРИОДЕ ПОСЛЕ ВИТАЛЬНОГО СТРЕССА

Безнин Г.В., Агафонова Д.С., Деркаева А.А., Сизов В.В., Белокоскова С.Г., Цикунов С.Г.
Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Актуальность исследования обусловлена высокой значимостью проблем изучения расстройств, вызываемых у человека экстремальным психоэмоциональным стрессом, и поиска механизмов их коррекции. Цель: оценка влияния 1-дезамино-8-D-аргинин-вазопрессина (ДДАВП) на поведение крыс в норме и в позднем периоде после воздействия витального стресса (ВС).

Материалы и методы. Объект: самцы крыс «Вистар». Материалы (препараты): р-р ДДАВП (50 мкг/мл), физиологический р-р (ФР). Часть крыс однократно подвергали острому ВС, вызванному переживанием обстоятельств гибели сородича и угрозы собственной жизни от действий питона. Часть крыс подвергали курсовому интраназальному введению того или иного препарата (ежедневно в объёме 40 мкл на животное; с 20-х по 29-е сутки после моделирования ВС). Оценивали поведение крыс в тестах «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт» (с 34-х по 38-е сутки после моделирования ВС).

Результаты. Крысы, 1) подвергнутые ВС и не получавшие препаратов, демонстрировали меньшую двигательную активность, чем интактные; 2) подвергнутые ВС и получавшие р-р ДДАВП, демонстрировали меньшую двигательную активность, чем не подвергавшиеся ВС, но получавшие р-р ДДАВП; 3) подвергнутые ВС и не получавшие препаратов, демонстрировали фрустрированность; 4) подвергнутые ВС и получавшие ФР, демонстрировали бóльшую исследовательскую деятельность, чем подвергнутые ВС и не получавшие препаратов; 5) подвергнутые ВС и получавшие р-р ДДАВП, демонстрировали меньшую фрустрированность, чем подвергнутые ВС и не получавшие препаратов; 6) не подвергавшиеся ВС, но получавшие р-р ДДАВП, не демонстрировали отличий в поведении от интактных.

Выводы. ВС оказал негативное влияние на поведение крыс. Крысы, получавшие препараты после ВС, демонстрировали в разной степени нормализованное поведение (предотвращение развития нарушений, вызываемых ВС, или/и восстановление функций после того, как они успели нарушиться). В качестве механизмов нормализации поведения крыс усматриваются а) адаптивный эффект хендлинга и б) корригирующий эффект ДДАВП. Наличие поведенческих отклонений у крыс, получавших р-р ДДАВП после ВС, указывает на ограничения корригирующей способности ДДАВП для его применения на позднем сроке после стрессового воздействия. Отсутствие отличий в поведении крыс, получавших р-р ДДАВП и не подвергавшихся ВС, от интактных соответствует представлениям о ДДАВП как о веществе, модулирующем нарушенные функции головного мозга и не оказывающем влияния на неповреждённый стрессом организм. Источники финансирования. Тема FGWG-2025-0019.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ГАММА-АМИНОМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ В ПРЕПАРАТАХ ЛАКТОБАЦИЛЛ МЕТОДОМ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМТЕРИИ

Бердичевский Г.М., Заличева А.Б., Новикова Н.С., Орлова В.В.
Институт экспериментальной медицины,
Санкт-Петербург

Актуальность. Гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) является основным медиатором, оказывающим тормозное и нейропротекторное действие на ЦНС. Она способна оказывать такие положительные и антивозрастные эффекты как антигипертензивный, противодиабетический, противораковый, антиоксидантный, противовоспалительный, противоаллергический, гепатопротекторный, нефропротекторный и кишечнопротекторный. ГАМК снижает уровень депрессии и тревожности, а также предотвращает бессонницу, снижает уровень глюкозы в крови, и усиливает чувствительность к инсулину, тем самым улучшая углеводный и липидный обмен при стрессе и увеличивая продолжительность жизни. Известно, что лактобациллы способны продуцировать ГАМК, благодаря наличию гена глутамат декарбоксилазы, во внешнюю среду, однако количество ГАМК зависит от конкретного штамма.

Материалы и методы. Для выполнения измерений уровня ГАМК используется метод тандемной жидкостной хромато-масс-спектрометрии, жидкостный хроматограф Ultimate 3000, производства DIONEX и масс-спеткрометр ESI-QTOF Maxis 4G, производства Bruker. Для культивации была использована универсальная питательная среда MPC. Для эксперимнента было взято около 20 образцов лактобацилл из коллекции отдела молекулярной микробиологии ИЭМ, а также коммерческий образец *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG. Бактерии культивировались в среде MPC в течение 2-х суток при температуре 37 ° C, среда фильтровалась через нейлоновый фильтр с диаметром пор 0,45 нм. Отбиралась аликвота фильтрата и вводилась в прибор. Хроматография проводилась в градиентном режиме в системе ацетонитрил-вода+0,1% муравьиной кислоты с градиентом ацетонитрила 1-100% в течении 15 минут. В результате проведения измерений все образцы показали различный уровень экспресии ГАМК.

Результаты и обсуждение. В результате проведения исследования были отобраны 4 штамма лактобацилл, уровень ГАМК в культуральной жидкости для которых был максимальным. Для каждого образца был определен титр бактерий и подсчитана секретирующая способность в пересчёте на 1 бактерию.

№ штамма	Г ГАМК, мг/мл	титр	Мг ГАМК/бакт
13	0,039	$2*10^8$	$1,9*10^{-10}$
14	0,034	$3*10^8$	$1,1*10^{-10}$
16	0,035	$5*10^8$	$0,71*10^{-10}$
24	0,059	$2*10^8$	$2,9*10^{-10}$
Lacticaseibacillus rhamnosus GG	0.11	$4*10^8$	$2,7*10^{-10}$

Представленные данные показывают что штамм № 24 из коллекции отдела показывает схожий уровень экспрессии ГАМК по сравнению со штаммом *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG.

Вывод. С учетом полученных данных можно заявить о создании быстрой методики оценки концентрации ГАМК в препаратах лактобацилл для дальнейшей комплексной оценки психобиотического и геропротекторного потенциала бактерий методом хромато-масс-спектрометрии с предварительным культивированием в питательной среде.

Работа выполнена в рамках ГЗ №FGWG-2025-0025

✶ ✶ ✶

МОДУЛЯЦИЯ АКТИВАЦИИ СИСТЕМЫ КОМПЛЕМЕНТА АНТИМИКРОБНЫМИ ПЕПТИДАМИ

Берлов М.Н.[1], Кренев И.А.[1], Егорова Е.В.[1], Комлев А.С.[1], Горбунов Н.П.[2], Костевич В.А.[2], Пантелеев П.В.[3], Овчинникова Т.В.[3], Алешина Г.М.[1], Шамова О.В.[1]

[1]Институт экспериментальной медицины,
[2]НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера,
Санкт-Петербург,
[3]Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
Москва

Введение. Система комплемента – ключевая гуморальная составляющая врожденного иммунитета. В то же время нарушения физиологической регуляции комплемента, сопровождающиеся его чрезмерной активацией, играют важную роль в патогенезе ряда тяжелых заболеваний, таких как пароксизмальная ночная гемоглобинурия (ПНГ). В связи с этим, одной из актуальных задач современной медицины является разработка препаратов, способных ингибировать комплемент. Ранее мы исследовали комплемент-модулирующие свойства антимикробных пептидов (АМП), принимающих конформацию антипараллельной β-шпильки, в частности, ареницинов. Потенциальное применение АМП в качестве ингибиторов комплемента имеет преимущество перед другими препаратами, поскольку дает возможность за счет антимикробной активности пептидов компенсировать иммунодефицит, вызываемый подавлением комплемента. Большинство АМП, способных модулировать активацию комплемента, проявляет разнонаправленное действие в зависимости от концентрации, что обусловливает необходимость модификации структуры пептидов для получения аналогов с однонаправленным действием. На основании полученных ранее результатов в данной работе были разработаны и исследованы синтетические аналоги ареницин-2[V8R] и G-ареницин-2[W2L, V8R].

Цель исследования. Оценка модуляции активации комплемента пептидными аналогами ареницинов.

Материалы и методы. Пептиды были получены методом твердофазного синтеза. Активность комплемента в сыворотке крови оценивали по уровню лизиса эритроцитов и продукции анафилатоксинов C3a и C5a. В качестве эритроцитов-мишеней действия комплемента использовали сенсибилизированные антителами эритроциты барана (модель классического пути, КП), эритроциты кролика (модель альтернативного пути, АП) и эритроциты человека, обработанные дигидробромидом 2-аминоэтил-изотиомочевины (модель ПНГ *in vitro*). Антимикробную активность пептидов оценивали методом радиальной диффузии.

Результаты. G-ареницин-2[W2L, V8R] в модели КП ингибирует гемолитическую активность сыворотки и двунаправленно действует на накопление C3a, а в модели АП не влияет на активацию комплемента. Ареницин-2[V8R] оказывает ингибирующее действие на активацию комплемента во всех использованных моделях со значением ИК50 35 мкМ по гемолизу в модели ПНГ. Оба исследованных пептида проявляют антими-

кробную активность в отношении грамотрицательных и грамположительных бактерий в субмикромолярных или микромолярных концентрациях.

Выводы. Исследованные пептиды незначительно отличаются лишь по N-концевой последовательности (GRL или RW), благодаря чему можно сделать вывод, что дипептид RW, присутствующий в структуре ареницина-2[V8R], играет важную роль в ингибировании пептидом активации комплемента по АП. Ареницин-2[V8R] является перспективным прототипом препарата для терапии ПНГ.

✶ ✶ ✶

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ АУТЕНТИЧНЫХ ПРОДУКТОВ ВЬЕТНАМА

Богатырева К.П.[1], Цапиева А.Н.[1], Морозова А.О.[1], Дуплик Н.В.[1], Буй Лан ань Ти[2], Нгуен Доай Ван[2], Суворов А.Н.[1]

[1]Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург,
[2]Joint Vietnam–Russia Tropical Science and Technology Research Center, Ханой, Вьетнам

Микробиологическое профилирование традиционных вьетнамских соевых продуктов представляет значительный интерес в контексте оценки их пищевой безопасности и поиска новых пробиотических штаммов. Субстраты тропических регионов являются уникальными резервуарами микроорганизмов, вынужденных существовать в условиях жесткой межвидовой конкуренции, что может обуславливать наличие у них выраженных антагонистических свойств.

Для исследования на территории Вьетнама было отобрано 30 образцов традиционных соевых продуктов: 28 образцов сыра тофу и 2 образца чао (ферментированный продукт на основе тофу). Образцы транспортировали и хранили при температуре 4±2 °С. Для выделения микроорганизмов 10 г каждого образца гомогенизировали в 90 мл физиологического раствора с последующим серийным разведением. Посев проводили на дифференциально-диагностические среды: агар MRS для лактобацилл, энтерококкагар и хромогенный агар. Инкубацию осуществляли при 37 °С в течение 24 часов. Чистые культуры получали трехкратным пассированием. Видовую идентификацию изолятов проводили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии на системе Bruker Daltonik GmbH.

В ходе исследования был выявлен широкий спектр микроорганизмов, как потенциально полезных, так и патогенных. Было выделено 45 изолятов, идентифицированных как представители 16 видов микроорганизмов. В составе микробиоты образцов доминировали представители родов *Lactobacillus*, *Lactococcus* и *Enterococcus*, при этом были идентифицированы штаммы *Lactobacillus plantarum* и *Lactococcus lactis* - классические представители пробиотиков. Наряду с этим в ряде образцов детектированы патогены *Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii* и *Candida albicans*, что свидетельствует о неудовлетворительном санитарно-гигиеническом состоянии части исследованных пищевых продуктов. Особый научный интерес представляет обнаружение штаммов *Lactococcus garvieae* и *Enterococcus sulfureus*, экологическая ниша которых традиционно ассоциируется с водной средой и растениями.

Полученные результаты демонстрируют, что вьетнамские соевые продукты являются перспективным источником для скрининга новых пробиотических культур. Значительное видовое разнообразие отражает сложную микробную экосистему исследуемых субстратов. Однако выявление условно-патогенных и патогенных микроорганизмов говорит о необходимости строгого контроля безопасности данных продуктов питания, особенно в условиях растущего туристического потока и интереса к аутентичной азиатской кухне. Дальнейшие исследования будут направлены на углубленное изучение фенотипических свойств перспективных пробиотических штаммов.

РАЗРАБОТКА ПРОТОКОЛА ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE В ТКАНИ ЛЕГКИХ МЫШЕЙ

Богатырева К.П., Заличева А.Б., Дуплик Н.В., Леонтьева Г.Ф.
Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Актуальность. При исследовании эффективности вакцинных кандидатов для профилактики инфекций, вызываемых *Streptococcus pneumoniae*, необходима количественная оценка бактериальной нагрузки в легких лабораторных животных. Однако при использовании стандартных микробиологических методов возникают трудности с количественным определением пневмококка, так как легкие являются органом с собственной микробиотой, среди представителей которой трудно дифференцировать крупные слизистые колонии *S. pneumoniae* при культивировании на плотной питательной среде. Исходя из этого, целесообразно разработать протокол количественного определения S. pneumoniae в тканях легких с помощью ПЦР в реальном времени.

Материалы и методы. Для детекции *S. pneumoniae* сконструирована специфическая пара праймеров (For: gcggtcttttgcatattggta; Rev: ccgattgctatttcttcacca), комплементарных участку гена домашнего хозяйства FecCD, кодирующего ABC-транспортер пермеазы. Валидацию метода начинали с построения калибровочной кривой: из чистой культуры пневмококка готовили серийные 10-кратные разведения с концентрацией пневмококка от 10^3 до 10^8 КОЕ/мл, выделяли ДНК с использованием набора QIAGEN DNeasy Blood & Tissue Kit с дополнительной преинкубацией для грамположительных микроорганизмов согласно протоколу производителя. ПЦР-РВ выполняли на амплификаторе CFX96 Touch с использованием набора Биомастер HS-qPCR Lo-ROX SYBR в градиенте температур 56-60 °C. Мышей линии Balb/c интраназально инфицировали, после чего сразу легкие извлекали, гомогенизировали, выделяли ДНК и проводили ПЦР-РВ.

Результаты и обсуждение. При валидации на чистой культуре установлено, что используемые праймеры обеспечивают высокую специфичность: температура плавления (Tm) ампликона во всех разведениях составляла 78,5 °C без дополнительных пиков на кривой плавления, что подтверждает отсутствие перекрестных реакций с другими участками генома. Построена линейная калибровочная зависимость порогового цикла (Ct) от логарифма концентрации бактерий (R2>0,99). При анализе гомогенатов легочной ткани при температуре отжига 56 °C на кривых плавления регистрировались выраженные побочные продукты и значения Ct были ложно завышены по сравнению с калибровочной кривой, в связи с чем температура отжига праймеров была повышена до 60 °C, что элиминировало появление нецелевых ампликонов.

Выводы. Разработанный протокол ПЦР-РВ пригоден для количественной оценки бактериальной нагрузки *S. pneumoniae* в ткани легких мышей в диапазоне концентраций от 10^3 до 10^8 КОЕ/мл. Полученная калибровочная кривая и оптимизированная циклограмма могут быть рекомендованы для использования в экспериментальных исследованиях для оценки эффективности вакцинных кандидатов против *S. pneumoniae*.

ИЗМЕНЕНИЯ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ И ЭЛЕКТРОКОРТИКОГРАММЫ КРЫС ПОСЛЕ ЛОКАЛЬНОГО РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Виноградова Ю.В., Северюхин Ю.С., Колесникова И.А., Утина Д.М., Фролова А.В., Гордеев И.С., Батова А.С., Сахарова С.К., Стешина Е.В., Давыдов Д.В., Павлик Е.Е., Анисимова А.Н.

Объединенный институт ядерных исследований, Дубна

Современные исследования в области радиационной нейрофизиологии имеют важное значение для моделирования и оценки эффектов лучевой терапии злокачественных новообразований ЦНС. Радиационно-индуцированные повреждения головного мозга могут приводить к когнитивным и функциональным нарушениям, оказывать существенное влияние на качество жизни и стратегию лечения. Целью данной работы было исследование биоэлектрической активности головного мозга крыс и поведенческих реакций в первые 5 дней после рентгеновского облучения головного мозга в дозе 10 Гр.

Облучение головного мозга крыс проводилось на установке Small radiation research platform (рентгеновское излучение, 220 кВ, 13 мА). До облучения в череп крыс были имплантированы позолоченные винтовые электроды. В течение 5 дней после облучения регистрировалась электрокортикограмма (ЭКоГ) с использованием беспроводного энцефалографа Neurologger (TSE). Значения тревожности, исследовательского поведения и локомоции крыс оценивались в тесте «Открытое поле» (OFT, OpenScience). Для анализа поведенческой латерализации и спонтанного чередования поведения использовался Т-образный лабиринт для крыс.

Выявлено выраженное снижение абсолютной спектральной мощности α-, β- и θ-волн ЭКоГ облученных крыс в 1-3 дня после облучения. К 5-му дню наблюдается статистически значимое увеличение относительной спектральной мощности β-волны у облученных крыс.

Облучение привело к усилению тревожного поведения у животных, проявляющегося в уменьшении общей длины пути, пройденного в «Открытом поле», увеличении количества эпизодов замирания и снижении исследовательской активности. В Т-лабиринте также наблюдались поведенческие изменения, которые можно охарактеризовать как тревожное поведение, снижение мотивации или замедление обработки пространственной памяти.

У облученных животных наблюдались одновременные, противоположно направленные изменения относительных показателей медленных и быстрых волн. Учитывая известную высокую когерентность кортикальной медленной и гиппокампальной активностей у крыс в свободном поведении (Young C. K., et al, 2009), снижение этих параметров часто является признаком развития нейровоспаления (Mamad O., et al, 2018). А увеличение относительной спектральной мощности β-ритма и снижение медленноволновой активности в течение 5 дней после облучения можно интерпретировать как маркер радиационно-индуцированного нарушения электрической организации головного мозга, нарушения таламокортикальной или гиппокампально-кортикальной связи.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМБИНАЦИЙ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ В ЭТИОТРОПНОЙ ТЕРАПИИ РАНЕВЫХ ИНФЕКЦИЙ, ВЫЗЫВАЕМЫХ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫМИ БАКТЕРИЯМИ

Владимирова Е.В., Сухарева М.С., Шамова О.В.
Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи, в частности раневые инфекции, представляют серьезную угрозу для жизни и здоровья пациентов на фоне неуклонного роста антибиотикорезистентности микроорганизмов. Особую опасность в клинической практике представляют бактерии группы ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp.), характеризующиеся множественной лекарственной устойчивостью, что существенно ограничивает эффективность традиционной антибиотикотерапии. В связи с этим разработка новых этиотропных подходов к лечению раневых инфекций является одной из приоритетных задач современной медицины.

Цель. Оценка эффективности комбинаций антимикробных пептидов животного происхождения и их синтетических аналогов с антибиотиками, антисептиками и наночастицами серебра в этиотропной терапии раневых инфекций, вызываемых антибиотикорезистентными бактериями группы ESKAPE.

Материалы и методы. Антимикробную активность веществ определяли с использованием метода серийных разведений в жидкой питательной среде; совместную антимикробную активность веществ оценивали с помощью серийных разведений по методу «шахматной доски». Влияние веществ на формирование микробных биопленок определяли спектрофотометрически при помощи окраски кристаллическим фиолетовым. Токсичность веществ для клеток человека оценивали с помощью гемолитического теста и МТТ-теста. Эффективность препаратов *in vivo* исследовали на модели полнослойной кожной раны мышей, инфицированной антибиотикорезистентными штаммами бактерий, проводили гистологическое исследование раневого дефекта.

Результаты. В ходе исследования отобраны синтетические аналоги пептидов врожденного иммунитета, обладающие наиболее высоким индексом селективности (для бактериальных клеток по сравнению с клетками человека) – PR-39, протегрин-1 (PG-1), мицецилин (MC), бактенецин 3.4 (ChBac3.4), рицецилин (RC), RFR-ChBac3.4(1-14). Получены комбинированные препараты, в которых активность антимикробных пептидов многократно повысилась в отношении антибиотикорезистентных бактерий группы ESKAPE вследствие сочетания с такими антимикробными агентами как антибиотики, антисептики и наночастицы серебра. Также показана антибиопленочная активность исследуемых препаратов и подтверждена их эффективность в экспериментах на животных на модели заживления инфицированных ран. Наиболее эффективные препараты: PR-39 с наночастицами серебра, стабилизированными ацетилцистеином, а также многокомпонентные комбинации с антибиотиками эритромицином и амикацином, антисептиком хлоргексидином и пептидами RFR-ChBac3.4(1-14) и ChBac5(20-43); MC и PR-39; PG-1 и PR-39.

В работе доказано, что пептиды осуществляют непосредственное воздействие на микроорганизмы, приводящее к элиминации патогенов, что говорит о возможности использования этих препаратов в этиотропной терапии инфекций.

Выводы. В целом, в результате проведенного исследования получена информация, важная для установления новых путей создания эффективных лекарственных средств на основе антимикробных пептидов животного происхождения и обоснования возможности усиления их активности в комбинированных препаратах для применения в терапии раневых инфекций.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки Российской Федерации, Государственное задание FGWG-2025-0005.

✷ ✷ ✷

ПЕРСПЕКТИВЫ ИНТЕГРАЦИИ КЛАССИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ В РАЗРАБОТКЕ ЖИВЫХ ПРОТИВОГРИППОЗНЫХ ВАКЦИН НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

Ворсина М.К., Ларионова Н.В., Киселева И.В., Руденко Л.Г., Дешева Ю.А.

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Актуальность. Постоянное обновление вакцинных препаратов против гриппа требует технологий, гарантирующих быстрое и надёжное получение аттенуированных штаммов. В настоящей работе представлен сравнительный анализ преимуществ и ограничений двух основных технологий получения живых гриппозных вакцин (ЖГВ) — классической реассортации и обратной генетики.

Материалы и методы. Классическая реассортация в развивающихся куриных эмбрионах обеспечивает стабильное наследование от донора аттенуации ключевых признаков безопасности — температурочувствительности и холодоустойчивости репродукции — и характеризуется высокой технологичностью массового производства. Вместе с тем этот метод достаточно трудоёмок, требует 7–8 пассажей селективного отбора и не гарантирует быстрого получения штаммов с необходимой формулой генома. Метод обратной генетики позволяет существенно сократить сроки разработки (3–4 пассажа) и обеспечивает возможность целенаправленной модификации генома, однако сопряжён с некоторым снижением холодоустойчивого фенотипа и требует дополнительной адаптации в куриных эмбрионах.

Результаты и обсуждение. Проведённые эксперименты in vivo на мышах и морских свинках показали, что по показателям гуморального иммунного ответа генно-инженерные реассортанты проявляют себя не хуже реассортантов, полученных классическим путем, а снижение холодоустойчивости не приводит к угнетению уровня аттенуации: штаммы, полученные обоими методами, одинаково безвредны для лабораторных животных. Установлено, что адаптационная аминокислотная замена Thr-203-Ile в HA1, выявленная у штаммов клайдов 3C.2a1 и 3C.2a2, повышает термостабильность гемагглютинина и иммуногенность для морских свинок.

Выводы. На основании полученных данных предложена стратегия интеграции обеих технологий для оптимизации процесса создания вакцин — использование обратной генетики для первичного конструирования штаммов с последующей адаптацией и характеризацией классическими методами, а также целенаправленное введение в геном хорошо охарактеризованных благоприятных мутаций (в частности, Thr-203-Ile). Интегрированный подход обеспечивает более глубокий анализ качества вакцинных препаратов, выявление полезных мутаций и ускоренное получение штаммов с оптимизированными свойствами, что особенно значимо в условиях необходимости оперативной подготовки сезонных и пандемических вакцин.

Работа была подготовлена в рамках государственного задания ФГБНУ «ИЭМ» FGWG–2025–0015.

ВЛИЯНИЕ LACTOBACILLUS BULGARICUS DWT1 НА ВУЛЬВОВАГИНАЛЬНЫЙ КАНДИДОЗ

Георги А.[1], Петкова А.[2], Пенева М.[1], Бурзашка Е.[3], Мисопулос Й.[4]

[1]Медицинский центр «Евроздоровье-Болгария»,
[2]Университетская больница общего профиля для активного лечения Св. Анна, София, Болгария,
[3]Университетская клиника Плевен «Доктор Георги Странски», Плевен, Болгария,
[4]Мика Нутри-Фарма ООД, Петрич, България

Актуальность. Вульвовагинальный кандидоз поражает 80% до 95% женщин и 40% беременных женщин. Инфекция возникает в толстой кишке или половым путем. Lactobacillus bulgaricus DWT1 улучшает кишечный микробиом и модулирует иммунитет. Целью настоящего исследования было определение эффекта пробиотической формулы, содержащей Lactobacillus bulgaricus DWT1 при вульвовагинальном кандидозе.

Материалы и методы. Объектом исследования в период 2023-2025 г. в университетской больнице Св. Анны были 68 беременных женщин на сроке 13-40 недель беременности с вульвовагинальным кандидозом. Диагноз ставился на основании клинического осмотра, микроскопического исследования вагинальных выделений и биохимических тестов. Был проведен опрос удовлетворенности лечением. У 80,88% женщин был выявлен Candida albicans, у 19,12% — Candida non albicans.

Вагинальные выделения собирали в начале терапии, на 15-й, 30-й и 60-й день. Беременных женщин случайным образом разделили на две группы по 34 человека. Группа А получала каждый день непрерывную нутритивную терапию в дозе 18 г пробиотика, содержащего Lactobacillus bulgaricus DWT1. Группа В принимает противогрибковый препарат местно.

Результаты и обсуждение. В группе А, получавшей пробиотическую терапию, субъективные жалобы исчезли на 4-й день, на 15-й день у 97,06% пациентов кандидоз был отрицательным, а при обследовании на 30-й и 60-й дни рецидивов кандидоза не выявлено. Не было ни одного случая преждевременных родов и инфекционных осложнений во время беременности и в послеродовом периоде. 97,05% пациентов были очень удовлетворены применением нутритивной терапии. В группе В субъективные жалобы исчезли на 8-й день, на 15-й день у 81,82% пациентов тест на Candida был отрицательным, на 30-й и 60-й день обследования у 18,18% пациентов наблюдались рецидивы кандидоза. У 12,12% пациентов произошли преждевременные роды, а у 15,15% появились инфекционные или вирусные заболевания. 54,55% удовлетворены лечением.

Вывод. Длительное самостоятельное применение пробиотика, содержащего Lactobacillus bulgaricus DWT1, является безопасным, быстрым и эффективным методом нутритивной терапии вульвовагинального кандидоза. Здоровье вагинальной и кишечной микробиоты является необходимым условием для нормальной беременности и физического и психического благополучия матерей, детей и всей семьи.

ВЛИЯНИЕ КИССПЕПТИНА-10 НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА АНДРОГЕНОВОГО РЕЦЕПТОРА В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ И ГОНАДАХ КРЫС ПОСЛЕ СТРЕССОРНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Гольц В.А., Костина М.И., Косякова Г.П., Рейпольская Т.Ю., Танянский Д.А.
Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Ранее было показано, что введение кисспептина-10 (Кр-10) крысам-самцам, подвергнутым стрессорным воздействиям, приводит к нормализации продукции гормонов гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси (ГГГО) (Гольц В.А. и др., 2025). В то же время, остается малоизученным, как Кр-10 в этих условиях влияет на чувствительность центральных и периферических органов ГГГО к тестостерону.

Цель. Оценить влияние Кр-10 на экспрессию гена андрогенового рецептора в гипоталамусе, амигдале и семенниках крыс в ответ на психотравмирующее стрессорное воздействие.

Материалы и методы. Исследование проводили на самцах крыс линии Вистар репродуктивного возраста. Рестрикционный стресс выполняли путем ежедневного обездвижения животного в индивидуальном пенале в течение 6 часов на протяжении 5 дней. Витальный стресс индуцировали путем однократного помещения животного к тигровому питону. На 9-й день после стрессорного воздействия животные начали получать Кр-10 (Гос.НИИ ОЧБ, Россия) внутрибрюшинно в дозе 1 мг/кг, либо физраствор курсом 5 дней. После выведения животных из эксперимента выполняли забор ткани головного мозга и семенников для оценки экспрессии гена андрогенового рецептора Ar при помощи ОТ-ПЦР и содержания его белка методом ИФА (Cloud-Clone, Китай). Анализ отличий показателей между группами (в группе по 5-6 образцов) проводили критерием Краскела-Уоллиса и тестом множественных сравнений Данна в программе Graphpad Prism v. 6.01.

Результаты. Выяснилось, что уровень мРНК Ar в гипоталамусе был снижен у крыс после перенесенных стрессорных воздействий, в то время как введение Кр-10 крысам, испытавших рестрикционный, либо витальный стресс, приводило к значительному повышению содержания мРНК Ar. Переживание крысами рестрикционного и витального стрессов не сопровождалось достоверным изменением содержания белка андрогенового рецептора в гипоталамусе. В то же время, введение Кр-10 приводило к значительному повышению содержания андрогенового рецептора в гипоталамусе как после рестрикционного, так и после витального стресса. Аналогичные изменения содерания белка андрогенового рецептора под действием Кр-10 происходили в амигдале. В противоположность эффектам в центрах мозга, в семенниках рестрикционный стресс повышал экспрессию гена Ar, а введение Кр-10 приводило к отмене указанного стрессорного воздействия на уровень мРНК рецептора. Введение кисспептина-10 крысам, пережившим витальный стресс, приводило к снижению в семенниках содержания белка андрогенового рецептора.

Выводы. Таким образом, с одной стороны, Кр-10 стимулирует активность ГГГО, а, с другой стороны, действие этого пептида (либо напрямую, либо через влияние на выработку тестостерона) направлено и на обратную ауторегуляцию активности этой оси за счет повышения чувствительности гипоталамических центров и центра эмоций к обратной негативной регуляции тестостероном. Посколько курсовое введение Кр-10 нормализует уровни половых гормонов, это проявляется также снижением в семенниках уровня экспрессии гена андрогенового рецептора (повышенной в семенниках при рестрикционном стрессе). Представленные результаты показывают, что действие Кр-10 не только стимулирует работу ГГГО, но и тонко настраивают чувствительность центральных и периферических органов данной системы к тестостерону.

* * *

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВАЦИЯ РЕЦЕПТОРОВ GLP-1 СНИЖАЕТ ИМПУЛЬСИВНОСТЬ В МОДЕЛИ РАННЕГО СТРЕССОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ У КРЫС

Деданишвили Н.С., Пюрвеев С.С., Лебедев А.А., Некрасов М.С., Лебедев В.А., Шабанов П.Д.
Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Нарушения механизмов самоконтроля, проявляющиеся повышенной импульсивностью и компульсивностью, рассматриваются как важное последствие раннего стрессового воздействия и один из ключевых факторов формирования аддиктивного поведения. Наряду с участием дофаминергической системы в этих процессах все большее внимание привлекает система глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1), рецепторы которой широко представлены в структурах мозга, обеспечивающих мотивацию, подкрепление и принятие решений. Несмотря на накопленные данные о влиянии агонистов рецепторов GLP-1 на пищевое и зависимое поведение, их роль в коррекции стресс-индуцированных нарушений самоконтроля остается недостаточно изученной. Целью исследования явилась оценка влияния фармакологической активации рецепторов GLP-1 на импульсивное и компульсивное поведение крыс после ранней временной изоляции от матери.

Исследование выполнено на самцах крыс линии Вистар, подвергшихся раннему постнатальному стрессу. Для фармакологической активации системы GLP-1 использовали эксенатид (Byetta®, AstraZeneca, Великобритания), который вводили подкожно в дозе 10 мкг/кг один раз в сутки на протяжении семи дней. Импульсивное поведение оценивали в модифицированном тесте выбора с различной вероятностью подкрепления, моделирующем принятие рискованных решений, а компульсивное — в тесте закапывания шариков. Статистическую обработку результатов проводили с использованием t-критерия Стьюдента; данные представлены в виде M±SEM, статистически значимыми считали различия при $p<0,05$.

Проведенное исследование показало, что активация рецепторов GLP-1 сопровождается достоверным уменьшением импульсивности. Животные, получавшие эксенатид, реже выбирали варианты с высокой степенью риска по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует об улучшении процессов принятия решений и усилении поведенческого контроля. В то же время выраженность компульсивного поведения в тесте закапывания шариков статистически значимо не изменялась, что указывает на отсутствие влияния препарата на данный компонент нарушений поведения в используемой экспериментальной модели.

Полученные результаты свидетельствуют о селективном участии системы GLP-1 в регуляции импульсивного, но не компульсивного компонента поведения, индуцированного ранним стрессовым воздействием. Вероятно, выявленные эффекты связаны с модуляцией активности мезокортиколимбических нейрональных сетей, обеспечивающих контроль принятия решений и мотивационного поведения. Полученные данные расширяют представления о нейробиологических механизмах действия агонистов рецепторов GLP-1 и подтверждают перспективность их дальнейшего изучения в качестве средств фармакологической коррекции стресс-индуцированных нарушений самоконтроля и аддиктивных расстройств поведения.

ВЛИЯНИЕ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫЕ ИМИДАЗОЛ-4,5-ДИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ НА ОБМЕН МОНОАМИНОВ В СТРУКТУРАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА У КРЫС

Дергачев В.Д.[1], Клименко Д.И.[1], Карпова И.В.[1], Брусина М.А.[1], Литасова Е.В.[1], Яковлева Е.Е.[1,2], Бычков Е.Р.[1], Шабанов П.Д.[1]

[1]Институт экспериментальной медицины,
[2]Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет,
Санкт-Петербург

Актуальность. Ключевым механизмом развития болезни Паркинсона является дегенерация дофаминергических нейронов чёрной субстанции. Современные исследования также рассматривают роль глутамата в патогенезе заболевания. Предполагается, что антагонисты глутаматных NMDA-рецепторов эффективны благодаря нескольким механизмам. Производные имидазол-4,5-дикарбоновых кислот представляют интерес для изучения глутаматергической передачи. В России для терапии болезни Паркинсона зарегистрирован препарат амантадин.

Цель. Оценить противопаркинсоническую активность новых производные имидазол-4,5-дикарбоновых кислот (ИЭМ2295, ИЭМ2296) и их влияние на обмен моноаминов в структурах головного мозга у крыс

Методы. Методика каталепсии: введение производных имидазол-4,5-дикарбоновых кислот (ИЭМ2295, ИЭМ2296) одновременно с галоперидолом (1 мг/кг), оценка продолжительности каталепсии через 30, 60, 120 минут после введения препаратов. Определение содержания нейромедиаторов в структурах головного мозга у экспериментальных животных проводилось методом высокоэффективной жидкостной хроматографией с электрохимической детекцией с последующей оценкой концентрации моноаминов и их метаболитов.

Результаты и обсуждение. ИЭМ2295 и ИЭМ2296 снижают выраженность каталепсии дозозависимо, наиболее заметно к 120 мин. Эффект реализуется через антагонизм к NMDA-рецепторам, что ослабляет патологическую гиперактивацию глутаматергической системы. Выявлено, что на фоне введения ИЭМ-2295 уровень дофамина был выше, чем у интактных животных, при сохранении коэффициентов DOPAC/DA и HVA/DA на уровне контроля. Напротив, ИЭМ-2296 сопровождался повышением отношений DOPAC/DA и HVA/DA, что свидетельствует об усилении метаболического оборота дофамина. Эти различия позволяют рассматривать ИЭМ-2295 как соединение с более благоприятным нейрохимическим профилем, обеспечивающим более стабильную дофаминергическую обеспеченность стриатума без признаков усиленного катаболизма медиатора.

Вывод. В модели галоперидол-индуцированной каталепсии показано, что соединения ИЭМ-2295 и ИЭМ-2296 уменьшают выраженность гипокинезии и ригидности в дозозависимой манере. Это позволяет рассматривать оба вещества как соединения с выраженной способностью ослаблять моторный дефицит в условиях дофаминергической блокады. Анализ содержания моноаминов в стриатуме показывает, что антипаркинсонический эффект исследуемых соединений связан преимущественно с их влиянием на дофаминергическую систему, а не с общей перестройкой моноаминового обмена.

КИССПЕПТИН KISS6 КОМПЕНСИРУЕТ ПОСТИШЕМИЧЕСКИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ КЛЕТОК ЯИЧНИКА, ВЫРАБАТЫВАЮЩИХ ПОЛОВЫЕ СТЕРОИДЫ У КРЫС

Дробленков А.В., Усмонова Д.С., Байрамов А.А.
Институт экспериментальной медицины,
Санкт-Петербург

Актуальность. Женский гипогонадизм (ЖГ) широко распространен среди населения мира и является основной причиной бесплодия. Известно, что импульсная выработка гонадолиберина опосредована влиянием регуляторных пептидов семейства кисспептинов, вырабатываемых нейроэндокринными клетками гипоталамуса. Поиск способов медикаментозной коррекции ЖГ через воздействие на клетки-«мишени» гипоталамо-гипофизарно-яичниковой эндокринной функциональной (ГГЯ) оси является актуальной задачей фундаментальной и прикладной медицинской науки.

Цель. Установить реактивные изменения эндокриноцитов яичника после развития гипогонадизма и воздействия препарата, содержащего регуляторный пептид кисспептин (Kiss1), важные для оценки эффективности заместительной терапии.

Материалы и методы. Исследовали яичники 46 взрослых самок крыс Вистар. У 42 особей моделировали гипогонадизм путём полного лигирования (под наркозом) сосудистого пучка левого и правого яичников. Через 60 мин лигатуры снимали, раны ушивали и проводили антисептическую обработку. Животные 1-ой экспериментальной группы (21 крысы) специальной терапии не получали. 21 особи другой группы проводили заместительную терапию путём введения синтетического кисспептина Kiss6 (Cloud Clone Corp., США) внутрибрюшинно из расчёта 0,5 мг / кг массы животного. Контролем служили 4 ложно-оперированных животных. Животных 1-ой и 2-ой групп выводили из опыта каждые 24 часа в течение 7 дней. В гистологических срезах обоих яичников крысы (окрашенных гематоксилином и эозином, а также после постановки реакции с моноклональными антителами против каспазы 3, Affinity Bioscitnces., China) в каждый из сроков эксперимента (n, количество срезов = 6) подсчитывали число неизменённых и апоптотически изменённых эндокриноцитов: интерстициальных и лютеоцитов, определяли их процентное соотношение; устанавливали площадь неизменных этих двух видов клеток. Характеристики интерстициальных клеток получали при исследовании теки меридионально срезанного третичного фолликула; лютеоцитов – в 1мм2 площади зрелого жёлтого тела (при помощи программы Морфометрия 7, Россия). Медианные значения и квартили устанавливали при помощи программы GraphPad PRISM (США), различия считали значимыми при $p < 0,01$).

Результаты и обсуждение. При переживании острой ишемии яичников процент жизнеспособных интерстициальных клеток значительно уменьшался, а процент гибнущих клеток этого вида увеличивался ко 2-м суткам опыта ($p < 0,001$), достигая максимума на 3-и сутки. С 4 по 7 сут эти параметры значительно не менялись. Площадь обоих видов клеток достоверно уменьшилась на 5 – 7е сут. У крыс, получавших после

ишемии яичников курс заместительной терапии, процент жизнеспособных и гибнущих эндокриноцитов обоих видов, а также площадь жизнеспособных клеток значительно не изменялись.

Выводы. Кисспептин Kiss6, воздействуя на интерстициальные эндокриноциты и лютеоциты (прямо, либо через звенья ГГЯ оси), компенсирует пост-ишемические морфологические нарушения клеток яичника, вырабатывающих половые стероиды.

* * *

МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ОСМЫСЛЕНИЮ НЕВРОГЕННО-ЭНДОКРИННОЙ ТЕОРИИ ПАТОГЕНЕЗА ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ ЖЕЛУДКА: НОВЫЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ДАННЫЕ

Дробленков А.В., Лебедев А.А., Пюрвеев С.С., Балаганский И.А., Эргашев О.Н.

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Актуальность. Высокая частота регистрации различных стадий язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки (ЯБЖ), а также низкая степень эффективности её лечения обусловлены отсутствием исчерпывающего и систематического знания патогенетического механизма развития данной патологии. Известно, что переживание состояния угрозы или психической травмы инициирует процесс развития ЯБЖ. Вместе с тем гипоталамический центр голода, являющийся основным объектом изучения неврогенного механизма ЯБЖ, представляет собой анатомически аморфную часть латерального гипоталамуса (ЛГ) и дорсомедиального гипоталамического ядра, при стимуляции разных суботделов которых могут быть получены разные результаты. В последние годы активно развивается гипотеза о роли системы пептида грелина в реализации стресс-зависимых дегенеративных процессов слизистой оболочки желудка и развитии дисбаланса медиаторных взаимоотношений в головном мозге.

Цель. Получение морфологического подтверждения гипотез о каудальной части латерального гипоталамуса как реакционно доминантной области центра голода и о влиянии пептида грелина на структурный гомеостазис слизистой оболочки желудка.

Материалы и методы. Эксперимент выполнен на трёх группах половозрелых самцов крыс Вистар (n=18, по 6 особей в каждой). После вживления электродов в наиболее каудальную часть ЛГ, соответствующую наиболее широкой части ствола медиального пучка переднего мозга (МППМ), пронизывающего гипоталамический центр голода, животных экспериментальной группы раздражали серией прямоугольных импульсов 200 мкА (длительность импульса 1 мс с частотой 100 Гц в течение 0,5 с, интервал между пачками 2 с) 15 мин в течение 7 дней. Контрольные группы составили ложно-оперированные крысы, которым были введены электроды, на которые ток не подавали, и интактные животные. При окончании эксперимента в утренние часы натощак производили забор цельных желудков всех животных, в полости которых сразу после секции определяли уровень кислотности (при помощи погружного датчика ph-метра). Гистологические срезы слизистой оболочки в кардиальной части желудка исследовали комплексом морфологических методов. При окрашивании гематоксилином и эозином была исследована гистологическая картина оболочки, определено количество и размерные характеристики мукоцитов в поверхностной части слизистой оболочки. В результате окрашивания альциановым синим установлены характеристики выработки слизи; иммуногистохимическая реакция с использованием антител против грелина и каспазы 3 была поставлена для идентификации грелин-продуцирующих эндокриноцитов и клеток, гибнущих путём апоптоза. Морфометрический метод (при помощи программы Морфометрия-7

(ООО «ВидеоТесТ», Россия) был использован для установления количества гибнущих мукоцитов, грелин-продуцирующих эндокриноцитов, а также площади их цитоплазмы. Медиану, верхний и нижний квартили параметров определяли, используя программу GraphPad PRISM 6.0 (USA).

Результаты и обсуждение. Реактивные изменения слизистой оболочки желудка в ответ на экспериментальное воздействие заключались в снижении кислотности содержимого желудка, образовании очаговых эрозий её поверхностной части, накоплении значительного количества каспазы 3 в цитоплазме поверхностных и большинства ямочных мукоцитов, которые сочетались с уменьшением их размера, площади цитоплазмы, высоты и признаками снижения выработки слизистого секрета этими клетками, а также со значительным утолщением защитной слизистой каёмки над свободной поверхностью оболочки. Гистологическая картина глубокой части слизистой оболочки в результате эксперимента, значительно нарушена не была. В ней было выявлено увеличение количества и площади цитоплазмы добавочных мукоцитов, а также уменьшение количества и размера грелин-продуцирующих клеток.

Вывод. Реакционно доминантной областью гипоталамического центра голода является каудальная часть латерального гипоталамуса в области расположения наиболее широкой части ствола медиального пучка переднего мозга. Систематическая стимуляция данной части ствола мозга способна индуцировать образование поверхностных очагов эрозии и выраженные дегенеративные изменения мукоцитов поверхностного и ямочного эпителия, массовую программируемую гибель этих клеток, многие из которых не содержали слизистого секрета. Этот альтеративный процесс может являться следствием снижения кислотности желудочного содержимого и нарушения местного грелин-продуцирующего эндокринного аппарата в ответ на стимуляцию гипоталамического центра голода. Компенсаторная гиперплазия и гипертрофия добавочных мукоцитов, являющиеся следствием известного нейро-эндокринного защитного механизма, способна обусловить утолщение слизистой каёмки в острую/подострую фазу развивающейся ЯБЖ.

* * *

ИЗМЕНЕНИЯ ЧИСЛА РЕЦЕПТОРОВ ТЕСТОСТЕРОНА ОПРЕДЕЛЯЕТ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ ГОМЕОСТАЗИС ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-ЯИЧКОВОЙ ЭНДОКРИННОЙ ОСИ

Дробленков А.В., Лисовский А.Д.
Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Актуальность. Известно, что регуляторные пептиды семейства кисспептинов, вырабатываемые нейроэндокринными клетками (КНЭК) гипоталамуса, активируют импульсную выработку гонадолиберина. Последний определяет дифференцировку мужской репродуктивной системы через гипоталамо-гипофизарно-яичковую (ГГЯ) функциональную ось. Однако количество и особенности распределения рецепторов к тестостерону (РТ) в КНЭК гипоталамуса при первичном гипогонадизме ранее не были изучены.

Цель. Установить количество РТ и особенности их распределения в телах КНЭК первентрикулярного ядра гипоталамуса (ПВЯГ) при экспериментальном гипогонадизме, а также обратимость этих изменений после восстановительной терапии.

Материалы и методы. Исследовали 12 взрослых самцов крыс Вистар. У 8-ми особей моделировали гипогонадизм путём полного лигирования левого и правого семенных канатиков с сосудистым пучком в течение 60 мин. 4 особи составили основную экспериментальную группу. Животным второй группы после восстановления кровотока в яичке (ex tempore) проводили заместительную терапию путём введения синтетического кисспептина Kiss6 (Cloud Clone Corp., США) внутрибрюшинно из расчёта 0,5 мг / кг массы животного. Продолжительность эксперимента – 10 суток. Контролем служили 4 ложно-оперированных животных. Во фронтальных гистологических срезах 0,01 мм2 середины правосторонней и левосторонней частей ПВЯГ (bregma минус 0,2 мм) после постановки реакции с мышиными антителами (клон F3, Cloud Clone Corp., Китай) определяли число и процент тел нервных клеток, различавшихся по степени экспрессии РТ аналогично тому, как это было выполнено ранее (Дробленков А.В., Прошина Л.Г., Юхлина Ю.Н. и соавт., 2017). Медиану и квартили полученных величин устанавливали при помощи программы GraphPad PRISM 6.0 (США).

Результаты и обсуждение. В группе контроля многие тела КНЭК отличались выраженной степенью экспрессии частиц, распределённых в частях данных клеток преимущественно равномерно. Цитоплазма или ядро другой значительной части тел клеток содержали протяжённые участки разреженности иммунопозитивных частиц; единичные тела КНЭК характеризовались слабо и очень слабо выраженной экспрессией РТ.

При гипогонадизме большинство малоизмененных тел КНЭК характеризовалось умеренно или слабо выраженной экспрессией иммунопозитивных частиц, при которой контур мембран клетки и ядра выглядел утолщенным. Те КНЭК нейроэндокринные клетки, обладавшие фенотипом клеток-«теней», отличались слабо или очень слабо выраженной степенью экспрессии РТ.

В результате заместительной терапии гипогонадизма Kiss6 большинство тел КНЭК характеризовалось либо умеренно выраженной, либо выраженной степенью экспрессии иммунопозитивных частиц. Вместе с тем часто попадались клетки-«тени» с очень слабо и слабо выраженной степенью экспрессии РТ.

Выводы. Количество рецепторов к тестостерону в телах КНЭК ПВЯГ при моделировании гипогонадизма снижается, а при заместительной терапии Kiss6 частично восстанавливается. Следовательно, изменения в системе «тестостерон - РТ» определяет структурно-функциональный гомеостазис ГГЯ эндокринной оси.

✶ ✶ ✶

ОСОБЕННОСТИ КИШЕЧНОГО И РЕСПИРАТОРНОГО МИКРОБИОМА У БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ ИЗ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

Дружинин В.Г., Баранова Е.Д.
Кемеровский государственный университет, Кемерово

Колоректальный рак (КРР) остаётся одной из ведущих причин смертности от онкологических заболеваний в мире. В последние годы активно изучается роль микробиоты кишечника в канцерогенезе: доказано, что дисбиотические изменения кишечника способствуют развитию опухоли через хроническое воспаление, повреждение ДНК, иммуносупрессию и метаболическую перестройку микроокружения. Однако остаётся неясным, ограничивается ли влияние болезни только кишечным микробиомом. Существование оси «кишечник — лёгкие» предполагает, что изменения в одном биотопе могут отражаться на другом. Тем не менее, респираторный микробиом у пациентов с КРР до настоящего времени систематически не исследовался. Цель работы — охарактеризовать и сопоставить таксономический состав микробиома кишечника и мокроты у больных КРР из Западной Сибири и здоровых добровольцев. В исследование включены 40 пациентов с КРР и 45 здоровых добровольцев. Образцы кала и мокроты от пациентов с КРР были получены до начала лечения. Проведено секвенирование региона V3–V4 гена 16S рРНК на платформе Illumina MiSeq. Кластеризацию OTU выполняли с использованием баз Greengenes и SILVA. Дифференциально представленные таксоны выявляли с помощью LEfSe и U-критерия Манна–Уитни.

Индексы альфа-разнообразия кишечного микробиома не различались ($p>0,05$), бета-разнообразие — достоверно различалось ($p<0,05$). В кишечнике больных КРР выявлено увеличение Proteobacteria (6,88% против 5,44%; $p=0,02$), Fusobacteria (0,48% против 0,14%; $p=0,0002$), родов Fusobacterium ($p=0,0002$), Bacteroides ($p=0,025$), Odoribacter ($p=0,0001$), Parvimonas ($p=0,002$) и снижение Ruminococcus, Lachnospira, Fusicatenibacter ($p<0,05$). На поздних стадиях (III–IV) содержание Akkermansia было выше, чем на ранних (2,24% против 0,85%; $p=0,02$). В мокроте больных КРР также не выявлено различий в альфа-разнообразии, при достоверных различиях бета-разнообразия ($p<0,05$). Отмечено увеличение Bacteroidetes (32,76% против 26,92%; $p=0,005$), Actinobacteria (10,3% против 8,28%; $p=0,01$), родов Nocardia ($p=0,005$), Leptotrichia ($p=0,006$), Campylobacter ($p=0,01$) и снижение Pseudomonas, Porphyromonas, Treponema ($p<0,05$). Впервые охарактеризован микробиом мокроты у больных КРР и показаны его изменения, ассоциированные с диагнозом. Выявленные различия указывают на системный характер микробиомных нарушений при КРР и обосновывают дальнейшее изучение оси «кишечник — лёгкие» в онкологии.

Исследование поддержано грантом РНФ №25-15-20012, и грантом Министерства образования Кузбасса № 02/2025.

* * *

МИКРОЦИРКУЛЯЦИЯ В ЛЕГКИХ У КРОЛИКОВ ПРИ ТРОМБОЭМБОЛИИ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ ЭКСТРАКТОВ ВОЛОДУШКИ ЗОЛОТИСТОЙ И ДОННИКА ЛЕКАРСТВЕННОГО

Евлахов В.И., Березина Т.П.
Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Проблема снижения сопротивления сосудов лёгких в условиях тромбоэмболии лёгочной артерии не решена в клинической практике. В этом плане является актуальным поиск новых фармакологических субстанций, действующих на лёгочные сосуды. Одним из подходов могло бы явиться использование экстрактов растений или их компонентов, которые проявляют тромболитические и вазодилататорные свойства.

Цель. Изучение изменений лёгочной и венозной гемодинамики при моделировании тромбоэмболии лёгочной артерии у кроликов в условиях применения спиртовых экстрактов травы Володушки золотистой (Bupleurum aurium L.) и Донника лекарственного (Melilotus officinalis L.).

Материалы и методы. Изучение изменений лёгочной и венозной гемодинамики при моделировании тромбоэмболии лёгочной артерии у кроликов в условиях применения спиртовых экстрактов травы володушки золотистой и донника лекарственного

Результаты. В условиях перфузии изолированных лёгких введение в легочную артерию экстрактов володушки и донника приводило к снижению давления в ней, лёгочного сосудистого и прекапиллярного сопротивлений, тогда как посткапиллярное сопротивление не изменялось. В случае применения экстракта володушки прекапиллярное сопротивление снижалось примерно так же, как и в ответ на применение антагониста ионов Ca2+ нифедипина, а ответ на применение экстракта донника этот показатель уменьшался в такой же степени, как и при введении в лёгочную артерию активатора K+ATP каналов никорандила. При моделировании тромбоэмболии лёгочной артерии на фоне действия указанных препаратов давление в лёгочной артерии, лёгочное сосудистое и прекапиллярное сопротивления возрастали меньше, чем в контроле. В условиях целостного кровообращения применение экстрактов володушки и донника вызывало снижение давления в лёгочной артерии. Лёгочный кровоток в первом случае увеличивался, а во втором – уменьшался. Направленность и величина сдвигов этого показателя были взаимосвязаны с таковыми – венозного возврата.

Выводы. Экстракты володушки и донника проявляют вазоактивные свойства, оказывая преимущественное дилататорное действие на лёгочные артериальные сосуды. Экстракт володушки проявлял блокирующие влияния на Ca2+ каналы, а экстракт донника мог способствовать активации K+ATP каналов гладкомышечных клеток артериальных сосудов лёгких.

Источник финансирования. Гос. задание FGWG-2025-0008

* * *

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ РЕКОМБИНАНТНОЙ АРГИНИНДЕИМИНАЗЫ STREPTOCOCCUSPYOGENES НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ КЛЕТОК АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЛЕГКОГО А549

Егидарова Е.Ю., Иванова А.А., Соколов А.В.
Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Примером изменения метаболизма у злокачественных клеток является подавление экспрессии ряда ферментов. Так, супрессия фермента аргининосукцинатсинтетазы (ASS), обеспечивающего превращение цитруллина в аргинин (R), приводит к ауксотрофии ряда линий опухолевых клеток по R. Напротив, аргининдеиминаза (ADI), катализирующая обратную ASS реакцию, в которой R гидролизуется до цитруллина с выделением аммиака. Удаление R из среды с помощью ADI может приводить к избирательной гибели опухолевых клеток, не затрагивая нетрансформированные клетки.

Цель. Оценка противоопухолевого потенциала рекомбинантной аргининдеиминазы (rADI) *in vitro* и исследование влияния rADI на распределение по стадиям клеточного цикла опухолевых клеток аденокарциномы легкого линии А549.

Материалы и методы. rADI была получена из рекомбинантного штамма *E.coli*, экспрессирующего ген ADI *S. pyogenes* M22. Очистку rADI из клеточного лизата осуществляли при помощи варианта металл-аффинной хроматографии на основе Ni(II)-кальцеин-сефарозы. Цитотоксичность rADI изучали на линии аденокарциномы легкого человека А549 с помощью МТТ-теста. Клетки А549 выращивали в стандартных условиях в 96-луночных планшетах. В опытных лунках к среде добавляли rADI в концентрации 40 мкг/мл. В качестве контроля - клетки без добавок и клетки с добавлением буфера, в котором растворяли rADI. Клетки инкубировали с ферментом, буфером или без каких-либо добавок в течение 1, 2 и 3 суток. На первые сутки исследований процент жизнеспособных клеток составил 49%, на вторые - 44,5%, а на третьи сутки - 25%. При этом контрольные клетки с добавлением буфера для разведения rADI оставались жизнеспособными (90%).

Для изучения механизма действия rADI на клетки А549 был проанализирован клеточный цикл с использованием проточного цитофлуориметра. Оценку количества ДНК проводили окрашиванием клеточной суспензии ДНК-связывающим красителем DAPI. Инкубацию с rADI длилась 24 часа.

Результаты. Большая часть клеток в контроле находилась в стадии G1 (60%), то есть в стадии начала деления ~ 20% в стадиях S и G2. При воздействии rADI значительно уменьшалась доля G1 (до 45%) и увеличивается доля клеток в стадии покоя G2 (35%).

Выводы. Исходя из полученных результатов, можно заключить, что 800 нМ rADI эффективно снижает жизнеспособность опухолевых клеток линии А549. Задержка жизненного цикла в стадии G2 может свидетельствовать о драматических изменениях обмена аргинина в опухолевых клетках, которые не позволяют им переходить на следующую стадию цикла и, следовательно, снижается количество клеток в стадии G1.

* * *

КОМПЛЕКСЫ АЛЬБУМИНА И ФИБРИЛЛОГЕННЫХ БЕЛКОВ: ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ АМИЛОИДОЗОВ

Егоров В.В., Грудинина Н.А.
Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Ранняя диагностика конформационных заболеваний, таких, как болезнь Альцгеймера, транстиретиновый кардиоамилоидоз, вторичный воспалительный, легкоцепевой и гемодиализный амилоидоз необходима для правильного выбора стратегии и своевременного начала лечения. На ранних стадиях заболеваний, когда лечение ещё возможно, симптомы ещё не проявляются, а концентрация неправильно свёрнутых маркерных белков в биологических жидкостях пациентов недостаточна для детектирования. Поэтому разработка новых точных и высокочувствительных методов ранней диагностики наличия низких концентраций неправильно свёрнутых амилоидогенных белков в крови является актуальной задачей, решение которой необходимо для терапии амилоидозов.

Для ряда белков известно, что при неправильном фолдинге экспонированные наружу гидрофобные участки могут связываться с сывороточным альбумином. Ранее при помощи метода динамического светорассеяния мы показали, что неправильно свёрнутый олигомерный бета-2-микроглобулин способен связываться с альбумином в крови.

Изучение таких созданных in vitro комплексов методом малоуглового нейтронного рассеяния, нативного электрофореза в полиакриламидном геле, флуориметрии с использованием гидрофобного зонда ANS и характеристического для амилоидных фибрилл красителя тиофлавина Т показало, что префибриллярные олигомеры бета-2 микроглобулина, в отличие от мономерных форм и фибрилл этого белка, способны связываться с альбумином в определённом стехиометрическом соотношении.

Это свойство позволит при выделении альбумина из крови пациентов существенно обогатить исследуемый образец детектируемым амилоидогенным белком и использовать полученную фракцию для исследования традиционными методами детекции амилоидогенных белков (например, методом CAMP).

Разработанный нами в модельной in vitro системе метод будет использован в дальнейших исследованиях при анализе наличия комплексов альбумина с амилоидогенными белками в биологических жидкостях пациентов.

* * *

ЗАМЕНА ПРОТИВОИОНА В АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДАХ

Егорова Е.В., Терешина В.С.
Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Антимикробные пептиды представляют собой многообещающий класс небольших молекул, обладающих широким спектром биологической активности против патогенных организмов. Одним из ведущих направлений разработки терапевтических средств является создание синтетических аналогов природных пептидов. Их основным методом получения служит твердофазный пептидный синтез, в результате которого пептиды получают в виде трифторацетатных солей. Отметим, что трифторацетат-ионы способны влиять на биологические и физико-химические свойства пептидов, поэтому в экспериментах важно учитывать тип противоиона. Но до сих пор не обнаружена точная корреляция между типом противоиона в пептиде и его биологической активностью.

Цель. Получение пептидов в хлоридной и ацетатной формах путем замены исходного противоиона трифторуксусной кислоты в синтетических аналогах антимикробных пептидов PG-2, ChBack 3.4, HBD1, C3f и LL37.

Материалы и методы. В исследовании использовали пептиды PG-2, ChBack 3.4, HBD1, C3f и LL37, полученные методом твердофазного синтеза по Fmoc/tBu-стратегии. Очистку пептидов осуществляли с помощью хроматографической системы среднего давления NGC Chromatography System (BioRAD). Анализ пептидов проводили с помощью системы ОФ-ВЭЖХ Agilent 1100. Для замены трифторацетат-иона на хлорид-ион пептид растворяли в 5 мМ растворе HCl, после инкубации полученный раствор лиофилизировали. Для замены на ацетат-ион использовали ионообменную хроматографию, в качестве матрицы выступала карбоксиметилцеллюлоза Sigma CM Cellulose, микрогранулированная C-4021. Успешность замены иона оценивали с помощью ОФ-ВЭЖХ по соотношению площадей пиков, принадлежащих трифторуксусной, уксусной или соляной кислоте.

Результаты. В результате твердофазного синтеза и последующей очистки пептиды были получены с чистотой не менее 95%. Также была осуществлена успешная замена трифторацетат-ионов на ацетат и хлорид ионы у пептидов, подтвержденная ОФ-ВЭЖХ.

Выводы. В ходе работы была проведена замена противоионов в антимикробных пептидах. В результате были получены пептиды в ацетатной и хлоридной формах с высокой степенью чистоты. На следующем этапе планируется проведение сравнительной оценки антимикробной и гемолитической активности полученных форм, что позволит оценить влияние противоиона на биологическую активность пептидов и их селективность в отношении бактериальных клеток.

* * *

ВОЗДЕЙСТВИЕ ЭКЗОГЕННОГО АНАЛОГА KISS1 НА УРОВЕНЬ КОРТИЗОЛА В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ DANIO RERIO

Зайцева П.Е., Костина М.И., Афанасьева И.А., Блаженко А.А.
Институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург

Актуальность. Кисспептин участвует в регуляции репродуктивной системы, стероидогенеза и нейроэндокринных процессов. Действие кисспептина реализуется через специфический рецептор и может осуществляться как опосредованно — через активацию гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси, так и непосредственно — посредством воздействия на стероидогенные клетки. Вместе с тем особенности взаимодействия кисспептиновой и стресс-реализующей систем в раннем эмбриогенезе изучены недостаточно.

Одним из основных показателей активности стрессовой системы является кортизол. Кортизол необходим для нормального созревания тканей и формирования нейроэндокринной системы эмбриона. Однако, как повышение, так и снижение его содержания относительно физиологического диапазона может изменять темпы развития, нарушать дифференцировку клеток и закладку органов, а также приводить к морфофункциональным отклонениям развивающегося организма.

В качестве модели использовали эмбрионы *Danio rerio*, которые характеризуются быстрым развитием и прозрачностью. Дополнительным преимуществом является то, что основным глюкокортикоидом у *Danio rerio*, как и у человека, служит кортизол.

Цель. Оценить влияние различных концентраций синтетического кисспептина-14 на содержание кортизола в гомогенатах эмбрионов *Danio rerio* на разных стадиях раннего развития.

Материалы и методы. В исследовании применяли синтетический кисспептин-14 с аминокислотной последовательностью NVAYYNLNSFGLRY-NH_2, соответствующий консервативному фрагменту kiss1 *Danio rerio.*

На 9-м часу после оплодотворения, соответствующем началу нейруляции, в среду инкубации добавляли кисспептин-14 в концентрациях 10, 20 или 50 нг/мл. В контрольных группах использовали 0,9%-й раствор NaCl. Образцы отбирали на 10-м, 48-м и 72-м часах после оплодотворения, поэтому длительность воздействия составляла соответственно 1, 39 и 63 часа.

Каждый экспериментальный образец включал 12 эмбрионов. Материал гомогенизировали криогенным методом в мельнице CryoMill 200 и суспендировали в калий-натрий-фосфатном буфере с pH 7,4.

Содержание кортизола определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием набора «СтероидИФА-кортизол». Содержание общего белка определяли методом Бредфорда. Результаты нормировали на количество белка и выражали в пикограммах кортизола на микрограмм общего белка.

Статистический анализ проводили в GraphPad Prism 8.0.1. Нормальность распределения проверяли критерием Шапиро—Уилка. В зависимости от распределения при-

меняли однофакторный ANOVA с пост-тестом Тьюки, t-критерий Стьюдента, в случае отсутствия нормального распределения критерий Крускала—Уоллиса с пост-тестом Данна или U-критерий Манна—Уитни. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. На 10-м часу после оплодотворения общий результат дисперсионного анализа составил: $F(3,50) = 2,682$, $p = 0,0567$.

При последующем межгрупповом сравнении содержание кортизола в группе, получавшей кисспептин-14 в концентрации 10 нг/мл, было ниже, чем в контроле ($p<0,05$). Таким образом, после одного часа воздействия эффект наблюдался при минимальной концентрации пептида.

На 48-м часу значение статистики составило: $F(3,42) = 2,249$, $p < 0,05$.

При сравнении отдельных групп снижение содержания кортизола было выявлено в группе 50 нг/мл относительно контроля ($p < 0,05$).

Наиболее выраженные различия наблюдались на 72-м часу: $F(3,46) = 5,178$, $p < 0,01$

При концентрации кисспептина-14 50 нг/мл содержание кортизола было ниже, чем в контрольной группе ($p < 0,01$), а также ниже, чем в группах 10 нг/мл ($p < 0,05$) и 20 нг/мл ($p < 0,01$).

Следовательно, эффект кисспептина-14 зависел от концентрации пептида и стадии развития эмбрионов. На 10-м часу после оплодотворения статистически значимое снижение содержания кортизола относительно контроля было выявлено при концентрации 10 нг/мл, тогда как на 48-м и 72-м часах значимый эффект наблюдался при концентрации 50 нг/мл. Изменение эффективной концентрации пептида в процессе эмбриогенеза не соответствует простой линейной зависимости «доза — эффект» и может указывать на стадийные изменения чувствительности рецепторных и регуляторных систем эмбрионов к кисспептину.

На ранних стадиях нервная и нейроэндокринная системы ещё формируются, поэтому действие кисспептина-14 вряд ли можно объяснить исключительно механизмом через зрелую гипоталамо-гипофизарную систему. Пептид мог непосредственно воздействовать на развивающиеся стероидогенные клетки, включая клетки-предшественники интерреналовой железы — функционального аналога надпочечников у рыб.

Такое предположение согласуется с данными о способности кисспептина регулировать экспрессию белка StAR, участвующего в транспорте холестерина и синтезе стероидных гормонов. Вместе с тем полностью исключить участие формирующихся нейроэндокринных механизмов нельзя.

Изменение чувствительности к кисспептину в ходе эмбриогенеза может быть связано с перестройкой рецепторной системы, изменением плотности и соотношения рецепторов, активности внутриклеточных сигнальных путей и развитием компенсаторных реакций. Возможна также немонотонная зависимость «доза — эффект», при которой разные концентрации оказываются активными на разных стадиях развития.

Снижение кортизола может отражать взаимодействие кисспептиновой и стресс-реализующей систем, включая механизмы отрицательной обратной связи. Дополнительное влияние возможно через дофаминергическую и серотонинергическую системы, участвующие в формировании эндокринного ответа на стресс.

Вывод. Синтетический кисспептин-14 изменял нормированное содержание кортизола в гомогенатах эмбрионов *Danio rerio*. На 10-м часу снижение показателя наблюдалось при концентрации 10 нг/мл, а на 48-м и 72-м часах — при 50 нг/мл. Выявленная динамика может быть связана с созреванием рецепторных и нейроэндокринных систем, формированием механизмов обратной связи или прямым воздействием пептида на развивающуюся стероидогенную ткань.

✷ ✷ ✷

ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ НА ВЕС И УРОВЕНЬ ГЛЮКОЗЫ У МЫШЕЙ В ПЕРИОД СТАРЕНИЯ

Заличева А.Б., Филатенкова Т.А., Орлова В.В., Бердичевский Г.М.
Институт экспериментальной медицины,
Санкт-Петербург

Возрастные изменения в составе кишечной микробиоты могут приводить к различным патологическим эффектам. Введение пробиотических препаратов позволит влиять на микробный состав в кишечнике и тем самым на метаболизм организма хозяина и таким образом способствовать здоровому долголетию.

В эксперименте использовали живые культуры пробиотических штаммов Lactobacillus rhamnosus GG и Enterococcus faecium L-3, штамм L.rhamnosus 24, выделенный из фекалий условно-здорового добровольца, а также коммерческий препарат, содержащий лиофилизированную культуру Akkermansia muciniphila WB-STR-0001 (Китай). Ночные культуры лактобацилл и энтерококка выращивали в среде MRS (Pronadisa, Испания), затем отмывали от питательной среды и ресуспензировали в фосфатном буфере. Препарат аккермансии ресуспензировали в фосфатном буфере без предварительного культивирования. Эксперимент проводили на мышах-самцах гибридов первого поколения (F1) линий СВА×C57BL/6 возрастом 15 месяцев. Препараты лактобацилл и энтерококка вводили перорально в объеме 10 мкл суспензии в количестве 1*10^7 КОЕ. При расчёте дозировки препарата аккермансии руководствовались заявленной производителем концентрацией таким образом, чтобы количество соответствовало 1*10^7 КОЕ на одну дозу. Животные контрольной группы получали эквивалентную по объему дозу физиологического раствора. Препараты вводили ежедневно в течение 21 дня. До начала эксперимента и через 21 день оценивали уровень глюкозы в крови из кончика хвоста с использованием глюкометра Контур Плюс (Швейцария), а также проводили взвешивание животных. Статистическую обработку проводили в программе GraphPad Prism с использованием критерия Вилкоксона.

В результате при измерении уровня глюкозы наблюдали статистически достоверное (при $p<0.05$) снижение уровня глюкозы в группе, получавшей препарат аккермансии, в то время как в группах контроля и получавших лактобациллы и энтерококк значимых изменений не было выявлено. У животных контрольной группы и группы, получавшей L-3, было отмечено статистически достоверное повышение веса. У животных из остальных групп значимых различий обнаружено не было, однако животные из групп, получавших штамм 24 и препарат аккермансии демонстрировали тенденцию к снижению веса.

Таким образом, было показано влияние запаивания пробиотическими бактериями на вес животных, а также влияние препарата A.muciniphila на уровень глюкозы в крови животных пожилой возрастной группы. Работа выполнена в рамках государственного задания № 075-00397-25-03.

* * *

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ДЕФЕКТА КОСТИ И ВВЕДЕНИЯ АЛЛОГЕННЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА РЕГЕНЕРАЦИЮ КОСТНОЙ ТКАНИ: СТАТИСТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ЭФФЕКТОВ

Зинченко Е.В.
ЛГМУ им. Свт. Луки Минздрава России,
Луганск

Актуальность изучения процессов восстановления костной ткани обусловлена высокой социальной и медицинской значимостью переломов и необходимостью разработки эффективных методов лечения [1, 2]. Существующие подходы не всегда обеспечивают полное восстановление структуры и функции кости, что требует поиска новых терапевтических стратегий. Одним из перспективных направлений является применение клеточных технологий, в частности АМСК, обладающих способностью модулировать регенерацию повреждённых тканей [3, 4]. Однако механизмы действия АМСК, оптимальные сроки и способы их введения остаются недостаточно изученными. Применение количественных методов анализа позволяет формализовать биологические эффекты и выявить временные закономерности ответа тканей на вмешательство. Использование коэффициента детерминации (η^2) даёт возможность оценить долю изменений, обусловленных контролируемыми факторами, что соответствует современным подходам вычислительной биологии и повышает воспроизводимость результатов.

Цель. Оценка степени воздействия искусственных дефектов проксимальной части большеберцовой кости (ББК) и внутривенной трансплантации АМСК на структуру хрящевых тканей проксимальных отделов и средней зоны диафиза плечевых костей на 15й день после повреждения с применением однофакторного дисперсионного анализа.

Материалы и методы. В исследовании использовали 78 взрослых самцов белых крыс массой 186–225 г. АМСК получали из костного мозга большеберцовых и бедренных костей после эвтаназии под анестезией, культивировали в среде ИглаМЕМ с необходимыми добавками в течение двух недель при 37 °С и идентифицировали с помощью специфических маркеров. Животные были распределены на три группы: контрольную, с нанесением костного дефекта и с введением АМСК. Забор образцов плечевых костей проводили на 30, 60 и 90 сутки. Препараты готовили по стандартной методике и исследовали с применением микроскопического анализа и морфометрии. Оценивали ширину зон хряща (индифферентных, пролиферирующих, дефинитивных хондроцитов, зоны остеогенеза и деструкции), общую ширину проксимального эпифизарного хряща, объёмное содержание межклеточного вещества и первичной спонгиозы, удельное количество клеток в зоне первичного остеогенеза, а также параметры диафиза: ширину остеонного слоя, диаметры каналов остеонов и остеонов, ширину слоёв наружных и внутренних генеральных пластинок, площадь костномозговой полости и площадь компактного вещества. Статистическая обработка включала однофакторный дисперсионный анализ и расчёт коэффициента детерминации (η^2) для оценки силы влияния факторов.

Результаты. Нанесение дефекта в проксимальных отделах ББК достоверно влияло на гистоморфометрические показатели проксимальных эпифизарных хрящей плечевых костей. Наиболее продолжительным было влияние на ширину зоны остеогенеза (с 30

по 60 сутки; $\eta^2 = 0{,}875$ и 0,518) и на общую ширину проксимального эпифизарного хряща (с 30 по 90 сутки; η^2 до 0,945). Также отмечено влияние на объёмное содержание межклеточного вещества ($\eta^2 = 0{,}424$–0,525) и первичной спонгиозы ($\eta^2 = 0{,}640$–0,477). В средней зоне диафиза достоверное влияние фактора регистрировалось на ширину остеонного слоя ($\eta^2 = 0{,}523$–0,649) и диаметры каналов остеонов ($\eta^2 = 0{,}893$–0,395). Введение АМСК на 15е сутки после травмы показало выраженный эффект на протяжении всего периода наблюдения. На изменение общей ширины эпифизарного хряща, ширины зоны пролиферирующих хондроцитов и объёмного содержания межклеточного вещества влияние сохранялось с 30 по 90 сутки ($\eta^2 = 0{,}752$–0,417, 0,563–0,347 и 0,562–0,420 соответственно). В диафизе введение АМСК достоверно влияло на ширину остеонного слоя и диаметры каналов остеонов на всех этапах исследования ($\eta^2 = 0{,}649$–0,411 и 0,671–0,504). Максимальная сила влияния контролируемого фактора наблюдалась на 30е сутки для общей ширины эпифизарного хряща, ширины зоны пролиферирующих хондроцитов ($\eta^2 = 0{,}752$ и 0,563) и ширины слоя наружных генеральных пластинок ($\eta^2 = 0{,}754$). Полученные данные свидетельствуют о том, что АМСК способны сглаживать структурные отклонения, вызванные травмой, и модулировать процессы регенерации в отдалённых участках скелета.

Проведённое исследование подтвердило, что нанесение дефекта кости достоверно изменяет гистологическое строение проксимальных эпифизарных хрящей и диафизов плечевых костей у крыс. Внутривенное введение АМСК на 15е сутки после повреждения оказывает значимое влияние на восстановление структуры костной и хрящевой ткани, особенно в ранний период после травмы. Количественная оценка эффектов с помощью коэффициента детерминации позволяет объективно сравнивать вклад различных факторов в динамику регенераторных процессов.

Выводы. Дефект проксимального отдела большеберцовой кости достоверно влияет на гистоморфометрические параметры плечевых костей, причём сила влияния варьирует в зависимости от срока наблюдения и оцениваемого показателя.

Внутривенное введение аллогенных мезенхимальных стволовых клеток на 15е сутки после травмы способствует сглаживанию структурных отклонений, вызванных повреждением, и поддерживает регенераторные процессы.

Применение однофакторного дисперсионного анализа и коэффициента детерминации (η^2) позволяет формализовать эффекты вмешательства и выявлять временные «окна» максимальной чувствительности тканей к терапии.

Полученные результаты подтверждают перспективность использования АМСК в разработке новых терапевтических подходов к лечению переломов и демонстрируют ценность вычислительно-биологических методов для объективной оценки биотехнологических разработок.

Список литературы:

1. *Зинченко, Е. В. Оценка силы влияния нанесения дефекта большеберцовых костей и внутривенного введения мезенхимальных стволовых клеток на гистоморфометрические показатели плечевых костей крыс / Е. В. Зинченко, В. И. Лузин // Морфологический альманах имени В. Г. Ковешникова. — 2020. — Т. 18, № 2. — С. 49–55.*

2. *Зинченко, Е. В. Оценка влияния введения мезенхимальных стволовых клеток на разных этапах формирования регенерата костной ткани на фоне нанесения дефекта большеберцовых костей на химический состав плечевых костей крыс / Е. В. Зинченко, В. И. Лузин // Морфологический альманах имени В. Г. Ковешникова. — 2020. — Т. 18, № 3. — С. 3–10.*
3. *Зинченко, Е. В. Изменение минерального состава костей скелета при нанесении дефекта большеберцовых костей и внутривенном введении мезенхимальных стволовых клеток на ранних этапах формирования костного регенерата / Е. В. Зинченко, В. И. Лузин, Д. А. Астраханцев // Травматология, ортопедия и военная медицина. — 2019. — № 4. — С. 9.*
4. *Соловьева, И. В. Влияние введения аллогенных мезенхимальных стволовых клеток на разных стадиях формирования костнокерамического регенерата большеберцовых костей на макромикроскопическое строение гипофиза белых крыс / И. В. Соловьева // Архив клинической и экспериментальной медицины. — 2023. — Т. 32, № 2. — С. 28–33.*

* * *

ВЛИЯНИЕ ПАРАМЕТРОВ КОНЪЮГАЦИИ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ С ФЛУОРЕСЦЕНТНЫМИ МИКРОСФЕРАМИ НА ХАРАКТЕРИСТИКИ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ ТЕСТ-СИСТЕМ

Иванов В.С., Дудкин И.Ю., Сафарян С.М.
ООО «РапидБио»,
Москва

Цель. Изучить влияние параметров конъюгации моноклональных антител с флуоресцентными карбоксилированными микросферами на аналитические характеристики количественных иммунохроматографических тест-систем.

Материалы и методы. Для получения конъюгатов использовали карбоксилированные полимерные микросферы с инкапсулированными комплексами европия и моноклональные антитела к диагностически значимым биомаркерам. Конъюгацию осуществляли методом карбодиимидной активации с использованием EDC и N-гидроксисукцинимида. В ходе работы варьировали концентрацию антител, условия активации поверхности микросфер, состав буферных растворов и параметры блокирования свободных функциональных групп. Полученные конъюгаты оценивали по интенсивности сигнала, стабильности хранения и воспроизводимости результатов.

Результаты. Установлено, что параметры конъюгации оказывают существенное влияние на эффективность связывания антител и аналитические характеристики тест-систем. Недостаточная загрузка поверхности микросфер приводит к снижению чувствительности анализа, тогда как чрезмерное количество антител может сопровождаться агрегацией частиц и увеличением неспецифического фона. Важным фактором является выбор условий блокирования поверхности, определяющих стабильность конъюгата при хранении и его поведение в процессе хроматографии. Оптимизация параметров конъюгации позволила повысить интенсивность аналитического сигнала и улучшить воспроизводимость результатов. Полученные данные подтверждают необходимость комплексного подбора условий синтеза конъюгатов для разработки высокочувствительных количественных тест-систем.

Выводы. Параметры конъюгации моноклональных антител с флуоресцентными микросферами являются одним из ключевых факторов, определяющих эффективность иммунохроматографического анализа. Оптимизация данных параметров позволяет повысить чувствительность, стабильность и воспроизводимость количественных тест-систем, что имеет важное значение для разработки современных средств лабораторной диагностики.

* * *

РАЗРАБОТКА ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ D-ДИМЕРА

Иванов В.С., Сафарян С.М., Дудкин И.Ю.
ООО «РапидБио», Москва

Цель. Разработка флуоресцентной иммунохроматографической тест-системы для количественного определения D-димера в плазме и цельной крови человека с использованием микросфер, содержащих комплексы европия.

Материалы и методы. В работе использовали моноклональные антитела к D-димеру, карбоксилированные флуоресцентные микросферы на основе полимерной матрицы с инкапсулированными комплексами европия и нитроцеллюлозные мембраны различной пористости. Конъюгацию антител с микросферами осуществляли методом карбодиимидной активации. Для формирования тестовой и контрольной зон применяли автоматизированное нанесение реагентов. Оценку аналитических характеристик проводили на образцах плазмы и цельной крови с использованием портативного флуоресцентного анализатора.

Результаты и обсуждение. В ходе исследований были оптимизированы условия конъюгации антител с флуоресцентными микросферами, состав буферных растворов и параметры подготовки мембранных компонентов. Использование микросфер, содержащих комплексы европия, обеспечило высокую интенсивность сигнала и низкий уровень фоновой флуоресценции. Разработанный прототип продемонстрировал устойчивое количественное определение D-димера в диапазоне клинически значимых концентраций. Применение флуоресцентной регистрации позволило повысить чувствительность анализа по сравнению с традиционными визуальными форматами иммунохроматографических тестов. Полученные результаты подтверждают перспективность использования данной технологии для экспресс-диагностики нарушений системы гемостаза и тромбообразования.

Выводы. Разработана флуоресцентная иммунохроматографическая тест-система для количественного определения D-димера на основе европий-содержащих микросфер. Предложенный подход обеспечивает высокую чувствительность анализа и может быть использован при создании современных средств экспресс-диагностики для клинической лабораторной практики.

* * *

ЕВРОПИЙ-СОДЕРЖАЩИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ МИКРОСФЕРЫ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ МАТЕРИАЛ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ ТЕСТ-СИСТЕМ

Иванов В.С., Сафарян С.М., Дудкин И.Ю.
ООО «РапидБио»,
Москва

Цель. Оценить возможности применения флуоресцентных микросфер, содержащих комплексы европия, при разработке высокочувствительных количественных иммунохроматографических тест-систем.

Материалы и методы. Проведен анализ современных подходов к использованию флуоресцентных меток в экспресс-диагностике. Рассмотрены свойства карбоксилированных полимерных микросфер с инкапсулированными комплексами европия, методы их функционализации и конъюгации с моноклональными антителами. Оценены основные факторы, влияющие на чувствительность и воспроизводимость иммунохроматографического анализа.

Результаты и обсуждение. В отличие от традиционных визуальных меток, основанных на коллоидном золоте или окрашенном латексе, европий-содержащие микросферы обеспечивают регистрацию сигнала с использованием флуоресцентных анализаторов, что существенно повышает аналитическую чувствительность метода. Высокая интенсивность свечения, широкий динамический диапазон и низкий уровень фонового сигнала позволяют использовать данные частицы для количественного определения биомаркеров в низких концентрациях. Дополнительным преимуществом является возможность автоматизированной обработки результатов и снижение влияния субъективной визуальной оценки. Использование европий-содержащих микросфер открывает перспективы создания тест-систем для определения кардиомаркеров, показателей гемостаза, инфекционных и воспалительных маркеров. Особое значение технология приобретает при разработке экспресс-тестов, требующих высокой чувствительности и количественной интерпретации результатов.

Выводы. Европий-содержащие флуоресцентные микросферы являются перспективным материалом для создания современных количественных иммунохроматографических тест-систем. Их применение позволяет повысить чувствительность анализа, расширить диапазон измеряемых концентраций и обеспечить объективную инструментальную оценку результатов исследования.

* * *

РАЗРАБОТКА КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ D-ДИМЕРА В ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ И ПЛАЗМЕ ЧЕЛОВЕКА

Иванов В.С.
ООО «РапидБио», Москва

Цель исследования. Разработка прототипа количественной флуоресцентной иммунохроматографической тест-системы для определения D-димера в цельной крови и плазме человека, а также оптимизация параметров, определяющих её аналитическую чувствительность, воспроизводимость и работоспособность при исследовании различных типов клинических образцов.

Материалы и методы. Исследование проводили с использованием флуоресцентных полистирольных микрочастиц с ковалентно иммобилизованными моноклональными антителами к D-димеру. Выполнен скрининг нескольких пар моноклональных антител различных производителей с оценкой их функциональной совместимости в формате «сэндвич»-иммуноанализа. Оптимизированы условия конъюгации антител с микрочастицами, концентрации иммунореагентов, параметры нанесения тестовой и контрольной линий, а также составы буферных систем для хранения конъюгата и анализа образцов. Аналитический сигнал регистрировали портативным флуоресцентным анализатором в виде отношения интенсивностей тестовой и контрольной линий (T/C). Работоспособность прототипа оценивали на образцах цитратной плазмы и цельной крови с различными концентрациями D-димера.

Результаты и обсуждение. В ходе исследования установлено, что выбор пары моноклональных антител оказывает определяющее влияние на чувствительность и динамический диапазон тест-системы. Проведённая оптимизация условий получения конъюгата позволила повысить стабильность флуоресцентной метки и воспроизводимость аналитического сигнала. Подбор состава буферных систем обеспечил снижение неспецифического связывания и сохранение функциональной активности иммунореагентов. Разработанный прототип продемонстрировал устойчивую зависимость отношения сигналов T/C от концентрации D-димера как при исследовании плазмы, так и цельной крови. Полученные результаты подтверждают возможность использования разработанного подхода для количественного определения D-димера в клинически значимом диапазоне концентраций и свидетельствуют о перспективности применения флуоресцентной иммунохроматографии в экспресс-диагностике нарушений системы гемостаза.

Выводы. Разработан прототип количественной флуоресцентной иммунохроматографической тест-системы для определения D-димера в цельной крови и плазме человека. Оптимизация иммунореагентов, параметров формирования конъюгата и состава буферных систем позволила получить стабильный аналитический сигнал и обеспечить работоспособность теста при исследовании различных типов клинического материала. Полученные результаты создают основу для последующей аналитической и клинической валидации тест-системы.

РАЗРАБОТКА КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СЕРДЕЧНОГО ТРОПОНИНА I

Иванов В.С.
ООО «РапидБио», Москва

Цель исследования. Разработка прототипа количественной флуоресцентной иммунохроматографической тест-системы для определения сердечного тропонина I (cTnI) в цельной крови и плазме человека, предназначенной для экспресс-диагностики повреждения миокарда.

Материалы и методы. Для создания тест-системы использовали флуоресцентные полистирольные микрочастицы, конъюгированные с моноклональными антителами к сердечному тропонину I. Проведён сравнительный анализ нескольких пар моноклональных антител различных производителей с оценкой их чувствительности, специфичности и совместимости в формате «сэндвич»-иммуноанализа. Выполнена оптимизация условий получения конъюгатов, концентраций иммунореагентов, параметров формирования тестовой и контрольной линий, а также состава буферных растворов. Аналитический сигнал регистрировали портативным флуоресцентным анализатором по отношению интенсивностей тестовой и контрольной линий (T/C). Оценку работоспособности прототипа проводили с использованием рекомбинантных препаратов cTnI, различных тропониновых комплексов и клинических образцов плазмы и цельной крови.

Результаты и обсуждение. Проведённый скрининг показал существенные различия аналитических характеристик исследованных пар моноклональных антител. Установлено, что выбор иммунореагентов оказывает ключевое влияние на чувствительность тест-системы, диапазон количественного определения и устойчивость аналитического сигнала. Оптимизация параметров конъюгации и состава буферных систем позволила повысить воспроизводимость результатов и снизить уровень неспецифического связывания. Разработанный прототип обеспечил количественную регистрацию сердечного тропонина I как в плазме, так и в цельной крови, что подтверждает возможность его использования для экспресс-лабораторной диагностики повреждения миокарда в условиях оказания неотложной медицинской помощи.

Выводы. Разработан прототип количественной флуоресцентной иммунохроматографической тест-системы для определения сердечного тропонина I. Проведённая оптимизация иммунореагентов и условий формирования аналитической системы обеспечила получение стабильного количественного сигнала и возможность анализа цельной крови без предварительной пробоподготовки. Полученные результаты являются основой для дальнейшей аналитической и клинической валидации разработанной тест-системы.

* * *

ОПТИМИЗАЦИЯ КОНСТРУКЦИИ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ЧЕТВЁРТОГО ПОКОЛЕНИЯ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИГЕНА P24 И АНТИТЕЛ К ВИЧ-1/2

Иванов В.С.
ООО «РапидБио», Москва

Цель. Оптимизация конструкции комбинированной иммунохроматографической тест-системы четвёртого поколения для одновременного выявления антигена p24 ВИЧ-1 и антител к ВИЧ-1/2 в цельной крови, сыворотке и плазме человека.

Материалы и методы. При разработке тест-системы использовали моноклональные антитела к капсидному антигену p24 ВИЧ-1, рекомбинантные антигены ВИЧ-1 и ВИЧ-2, коллоидные наночастицы в качестве визуальной метки и нитроцеллюлозные мембраны. Оптимизацию проводили последовательно для антигенного и серологического компонентов теста. Выполняли скрининг пар антител к p24, подбор концентраций иммунореагентов в составе конъюгата и аналитических зон, оптимизацию состава буферов для хранения и высвобождения конъюгата, а также объёма образца и режима проведения анализа. Работоспособность прототипов оценивали с использованием рекомбинантного антигена p24, стандартных и клинических образцов, содержащих антиген p24 или антитела к ВИЧ-1/2, а также отрицательных образцов. Результаты интерпретировали визуально по наличию и интенсивности окрашивания соответствующих тестовых и контрольной линий.

Результаты и обсуждение. В ходе исследования установлено, что одновременное объединение антигенного и серологического компонентов в одной тест-полоске требует раздельной оптимизации условий связывания иммунореагентов. Изменение концентраций конъюгатов, состава буферных систем и параметров нанесения реагентов влияло как на аналитическую чувствительность определения p24, так и на интенсивность линий при выявлении антител к ВИЧ-1/2. Подобранная конструкция тест-полоски обеспечила воспроизводимое формирование контрольной линии и раздельную регистрацию антигена p24 и антител к ВИЧ-1/2. Оптимизация антигенного компонента позволила повысить интенсивность сигнала при низких концентрациях p24, при этом чувствительность серологического компонента была сохранена на уровне, сопоставимом с тест-системами третьего поколения. При исследовании отрицательных образцов значимого неспецифического окрашивания аналитических зон не наблюдалось. Полученные результаты подтверждают возможность совместного выявления раннего маркера инфекции — антигена p24 — и антител, формирующихся на последующих стадиях иммунного ответа.

Выводы. Оптимизирована конструкция иммунохроматографической тест-системы четвёртого поколения для одновременного выявления антигена p24 ВИЧ-1 и антител к ВИЧ-1/2. Раздельная оптимизация антигенного и серологического компонентов позволила повысить чувствительность определения p24 без выраженного ухудшения выявления антител. Разработанный прототип может быть использован как основа для дальнейшего проведения аналитических и клинических испытаний.

РОЛЬ ЛЕПТИН-АССОЦИИРОВАННОЙ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ДИСФУНКЦИИ В ПАТОГЕНЕЗЕ КЛИМАКТЕРИЧЕСКОГО СИНДРОМА КАК ФАКТОРА КАРДИОМЕТАБОЛИЧЕСКОГО РИСКА

Карагезян К.М., Романовская А.В.

Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского, Саратов

Переход к менопаузе сопряжен с изменениями состава тела, повышающими риск кардиоваскулярной и эндокринной патологии (Миняйло и соавт., 2025). Диспропорциональное накопление висцерального жира сопровождается гиперпродукцией лептина, что оказывает системное влияние на метаболический гомеостаз (Miyake и соавт., 2026; Cybulska и соавт., 2025).

Цель. Изучение взаимосвязи метаболической дисфункции и тяжести КС у женщин в перименопаузе.

Материалы и методы. В исследование включено 200 женщин (45–55 лет) с симптомами КС, распределенных на подгруппы по шкале Грина: слабая степень (n=88), средняя (n=65), тяжелая (n=47). Всем участницам рассчитаны индекс массы тела (ИМТ), индекс формы тела (ИФТ) z-score, комбинированный индекс висцерального ожирения (ИВО), определена концентрация лептина в сыворотке крови. Статистическая обработка данных проведена с применением критерия Краскела-Уоллиса, при выявление статистически значимых отличий – последующее попарное сравнение U-критерем Манна-Уитни.

Результаты. Значение ИМТ составило 27,9 ± 4,1 кг/м2 при слабой форме КС, 28,5 ±3,6 кг/м2 – при средней, 28,9 ± 4,7 кг/м2 – при тяжелой и значимо не отличались в подгруппах по степени выраженности КС (p = 0,628). При этом показатель z-score ИФТ значимо увеличивался вместе с нарастанием выраженности КС: при слабой форме КС составил 1,01 [-1,64;0,04], при средней – 0,26 [-1,41; 0,33], при тяжелой – 0,27 [-0,21; 0,46] (рл-с= 0,039, рл-т <0,001, рс-т = 0,020). Аналогичная динамика прослеживалась при анализе ИВО, его значения в подгруппе со слабой степенью КС (2,13 [1,61; 2,64]) были статистически значимо ниже, чем при среднем (2,43 [2,07; 3,08], p=0,001) и тяжелом (2,6 [2,2; 3,53], p<0,001) вариантах течения. Концентрация лептина также возрастала с нарастанием интенсивности КС: уровни лептина были достоверно выше при средней (11,2 нг/мл, p=0,019) и тяжелой (10,9 нг/мл, p=0,005) степени КС по сравнению со слабой (9,6 нг/мл).

Выводы. Таким образом, прогрессирование КС ассоциировано с увеличением объема висцерального жира и гиперлептинемией независимо от ИМТ. Применение новых антропометрических индексов и оценка уровня лептина целесообразно при формировании стратегий наблюдения за кардиометаболическим здоровьем у женщин в перименопаузе.

* * *

ИССЛЕДОВАНИЕ ЧАСТОТ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ЦИТОХРОМОВ-МЕТАБОЛИЗЁРОВ АНТИДЕПРЕССАНТОВ В РОССИЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Колесникова И.С., Бердникова А.А., Кушнаренко В.С., Пантелеева Н.В., Мамчиц А.А., Межевалова А.С., Сивакова А.А., Полуновский В.В.
ООО "Национальный Центр Генетических Исследований", Новосибирск

Актуальность. Депрессивные расстройства являются одной из наиболее распространенных причин снижения качества жизни и трудоспособности населения. Несмотря на широкий выбор антидепрессантов, эффективность и безопасность их различается у разных людей, и одной из ключевых причин этих различий являются генетические особенности пациентов. Цитохром CYP2D6 играет ключевую роль в метаболизме таких антидепрессантов как флуоксетин, флуоксамин, венфлаксин, вортиоксетин, амитриптилин, нортриптилин и ряда других. Эффективность бупропиона – антидепрессанта, используемого при терапии никотиновой зависимости – во многом определяется цитохромом CYP2B6. На российских популяциях исследования распространения указанных генетических вариантов проводились в крайне малом количестве и на ограниченных выборках и не дают представления о распределении генотипов в общероссийской популяции.

Цель. Целью настоящей работы был анализ распространённости полиморфизмов rs3745274 (ген CYP2B6), rs16947 и rs1065852 (ген CYP2D6) в Российской популяции. Были генотипированы соответственно 5689, 5693 и 6040 человек из различных регионов Российской Федерации. Генотипирование проводили методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с гибридизационно-флуоресцентной детекцией сигнала. Сравнение с европейской и восточноазиатской популяциями проводили методом Хи-квадрат.

Результаты и обсуждение. Частота генотипов rs3745274 CYP2B6 составила: GG – 58%, GT – 36%, TT – 6%, частота минорного аллеля G составила 24%; распределение не отличается от такового в общеевропейской и восточноазиатской популяциях.. Частота генотипов CYP2D6 составила: rs16947: GG – 43%, GA – 42%, AA – 25%, частота минорного аллеля A составила 46%; rs1065852: GG – 65%, GA – 30%, AA – 5%, частота минорного аллеля A составила 46%; распределение в обоих случаях не отличается от европейской, но в значительной степени отличается от восточно-азиатской популяции.

Вывод. Таким образом, по распределению исследованных генетических вариантов российская популяция не отличается от популяции Европы, однако распределение вариантов CYP2D6 принципиально отличается от такового в Восточной Азии. Это важно учитывать при назначении таких антидепрессантов как флуоксетин, флуоксамин, венфлаксин, амитриптилин и других, в метаболизме которых он принимает участие. Особенно это касается крупных городов с многонациональным населением и восточных регионов России.

* * *

ПЕПТИДЕРГИЧЕСКАЯ МОДУЛЯЦИЯ ТОЛЕРАНТНОСТИ И ЗАВИСИМОСТИ, ВЫЗВАННЫХ ОПИОИДАМИ. ОЦЕНКА ЕЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ НА ПОВЕДЕНЧЕСКИХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЯХ

Константинопольский М.А.

Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий, Москва

Поиск новых субстанций и разработка на их основе перспективных лекарственных средств для снижения выраженности или купирования состояний толерантности и зависимости от лекарственных средств с выраженным наркогенным потенциалом, таких как этанол, барбитураты или опиоиды, является актуальным направлением современных психофармакологии и экспериментальной наркологии. Несмотря на многочисленные исследования в указанных научных областях, практически отсутствуют новые эффективные и безопасные лекарственные средства, способные устранять или существенно ослаблять клинические проявления отмеченных выше состояний. Эндогенные нейропептиды, в том числе, нейротрофины разных классов и их структурно-функциональные аналоги или миметики могли бы стать основой для создания препаратов нового поколения для решения указанных задач клинической наркологии. Ранее было показано, что дипептидные, триптофан-содержащие аналоги холецистокинина (ХЦК-4) соединения ГБ-101 и ГБ-115, соответственно, способны снижать выраженность признаков отмены опиоидов и развитие толерантности к ним у крыс, в то время как дипептидные функциональные миметики разных петель молекулы BDNF, соединения ГСБ-106 и ГСБ-214 эффективно устраняли признаки синдрома отмены (СО) опиоидов и нивелировали поведенческий «craving» у этих животных [Konstantinopolsky M et al., 2016 - 2019].

Актуальность. Вещества эндогенной природы, NT-3 нейротрофины, наряду с веществами классов NT-4 и BDNF, являются модуляторами различных функций и процессов в ЦНС млекопитающих и человека, как в норме, так и при развитии патологических синдромов и заболеваний. Несмотря на многочисленные исследования и попытки их практического применения, отсутствуют лекарственные средства, созданные на основе полноразмерных молекул нейротрофинов или их коротких, ди-три или тетрапептидных аналогов, способных эффективно купировать или значительно ослаблять выраженность неврологических и психических расстройств, в том числе, вызванных длительным приемом и последующей отменой наркотических веществ. Развитие феномена толерантности к последним следует рассматривать как важный продромальный показатель и предиктор формирования зависимости к веществам класса опиоидов. В этой связи создание и апробация адекватных и легко воспроизводимых поведенческих моделей зависимости и толерантности в экспериментах на животных, позволяющих получать результаты, сопоставимые с клиническими данными, представляет собой важную задачу с точки зрения объективной качественной и количественной оценки эффективности новых соединений.

Цель. Изучение влияния одного из миметиков нейротрофина NT-3, дипептида ГТС-301, на развитие толерантности к морфину, выполненное на новой экспериментальной модели при субхроническом введении низких доз опиоидного анальгетика животным, а также сравнительная экспериментальная оценка эффективности в ряду нейропептидов различных классов по их способности снижать выраженность признаков СО опиоидов и влиять на величину реакции «предпочтения места» в тесте CPP (условно-рефлекторное предпочтение места - аналога поведения «craving»).

Материалы и методы. Работа проведена на 160 беспородных крысах-самцах при ежедневном введении веществ в течение 7 дней на модели толерантности, оцениваемой по их анальгетическому эффекту в 1, 3, 5 и 7-й дни эксперимента. Регистрировали болевые пороги у крыс в тесте «отдергивания хвоста» (Tail flick test, Ugo Basile, Италия). Изучаемый миметик нейротрофина NT-3, дипептид ГТС-301, а также упомянутые выше короткие аналоги нейропептидов – нейротрофины ГТС-106, ГТС-114 и аналог ХЦК-4 дипептид ГБ-115 были разработаны и синтезированы в Отделе медицинской химии ФГБУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»; эталонный препарат, морфина гидрохлорид, произведен в ФГУП «Эндофарм». Опиоидный анальгетик вводили в/б в дозе 2,0 мг/кг, 1 р/сутки; дипептид ГТС-301 в/б или per os в дозах 0,1-10 мг/кг, соответственно, ежедневно, 1-кратно, за 45 мин до инъекций морфина. Данная схема введения веществ при оценке толерантности была применена впервые, в отличие от ранее использованной нами процедуры с 2-х кратным, с интервалом в 8 час. ежедневным введением опиоидов [Константинопольский М.А., 2016]. Зависимость от морфина гидрохлорида вырабатывали посредством его в/бр введения крысам в течение 5 дней в возрастающих дозах в соответствии с разработанной ранее схемой, синдром отмены оценивали в тесте «открытое поле» после инъекции антагониста опиоидных рецепторов налоксона с последующей регистрацией 18-ти специфических поведенческих показателей СО и расчетом суммарного индекс (СИ) СО [Константинопольский М.А. и соавт.,1992-2013]. В тесте CPP, морфин, морфин + пептид или пептид, вводили в течение 6 дней, через 24 часа оценивали влияние миметиков BDNF и NT-3 на предпочтение животными одного из отсеков 3-х камерной установки (Sun Diego instr.).

Результаты и обсуждение. В предварительных экспериментах было показано, что дипептид ГТС-301 при в/б 1-кратном введении в дозах 0,1-10 мг/кг демонстрировал анальгетическую активность продолжительностью не менее 90 мин.; эффект воспроизводился при введении per os. Новая схема 1-кратного ежедневного введения веществ позволила оценить развитие толерантности к анальгетическому эффекту морфина; к 5– 7-му дням эксперимента в группе «H_2O+морфин» болевые пороги находились на уровне исходных значений – анальгетический эффект отсутствовал. В группе «ГТС-301+морфин» через 60 и 90 мин после введения морфина анальгетический эффект комбинации веществ был заметно выражен, толерантность не отмечалась. Болевые пороги в группе «ГТС-301+морфин», в 7-й день опыта, через 60 мин после в/б введения веществ составили 140,9 %; после введения per os – 134,9 %, ($P < 0,05$), относительно исходного уровня порогов в группе; через 90 мин после инъекций повышенный уровень порогов сохранялся на уровне 150,6 % и 128,8 % ($P < 0,05$), соответственно способу введения. Миметик 1-й петли BDNF, ГТС-214, в тесте CPP, уменьшал время этой реакции на 55,2 сек в сравнении с гр. активного контроля, а также заметно ослаблял толерантность к введению опиоида

в анальгетическом тесте. Миметик 4-й петли BDNF, дипептид ГСБ-106, уменьшал выраженность признаков СО морфина в среднем на 45,6 – 55,2 %, $P < 0.01$, соответственно, при 1-кратном и хроническом в/бр введении.

Вывод. Используемая в данном исследовании новая модель толерантности показала свою адекватность и эффективность. Короткие дипептидные миметики NT-3-нейротрофинов могут быть модуляторами развития толерантности к опиоидам, вызванной их ежедневным 1-кратным системным применением. Дипептидные функционально-структурные миметики 1-й и 4-й петель молекулы BDNF демонстрировали эффективность, снижая выраженность поведенческих показателей синдрома отмены морфина у крыс.

* * *

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ В РЕАНИМАЦИИ НОВОРОЖДЕННЫХ: ОПЫТ ЛОКАЛЬНОГО МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА

Конюхов Д.М.

Национальный медицинский исследовательский центр инфекционных болезней ФМБА России, Санкт-Петербург

Актуальность. Рост антибиотикорезистентности у микроорганизмов, циркулирующих в отделениях реанимации и интенсивной терапии новорождённых (ОРИТН), осложняет выбор эмпирической антибактериальной терапии. Регулярный локальный мониторинг позволяет своевременно выявлять распространение мультирезистентных штаммов и корректировать лечебную тактику. Цель исследования: оценить профили и динамику антибиотикорезистентности основных микроорганизмов, выделенных в ОРИТН.

Материалы и методы. Проведено ретроспективное одноцентровое исследование результатов бактериологических исследований у новорождённых ОРИТН ДГБ № 17 Санкт-Петербурга за 2020–2025 гг. Проанализирован 3651 изолят, полученный от 2668 пациентов. Чувствительность определяли к ампициллину, цефотаксиму, цефтазидиму, гентамицину, амикацину и нетилмицину. Для межгодового сравнения использовали критерий χ^2 Пирсона, для анализа линейного тренда - тест Кохрана-Армитиджа; значимыми считали различия при $p<0,05$.

Результаты и обсуждение. Наиболее значимые профили резистентности зарегистрированы у Staphylococcus epidermidis, Klebsiella pneumoniae, Enterobacter cloacae и Enterococcus faecium. У S. epidermidis (n=884 протестированных изолята) устойчивость к цефотаксиму составила 91,1%, что косвенно указывало на широкое распространение метициллинорезистентных штаммов. Устойчивость к гентамицину достигла 79,0%, к амикацину - 50,6%, тогда как к нетилмицину - 23,9%. Мультирезистентность выявили у 57,8% изолятов; её доля возросла с 55,6% в 2022 г. до 65,6% в 2025 г. ($p<0,001$). У K. pneumoniae устойчивость к цефотаксиму и цефтазидиму составила 81,8% и 81,4%, что соответствовало вероятному распространению продуцентов β-лактамаз расширенного спектра. К гентамицину, амикацину и нетилмицину были устойчивы 40,6%, 36,1% и 28,3% изолятов соответственно. Мультирезистентность отмечена у 67,2% штаммов и значимо увеличилась за период наблюдения ($p<0,001$). У E. cloacae устойчивость к цефотаксиму достигла 71,0%, к цефтазидиму - 74,0%; мультирезистентность выявили у 62,7% изолятов. У E. faecium часто регистрировали высокоуровневую устойчивость к аминогликозидам: к гентамицину - 92,6%, амикацину - 83,8%, нетилмицину - 73,0%. Доля мультирезистентных E. faecium увеличилась с 32,8% в 2022 г. до 66,7% в 2025 г. ($p<0,001$).

Вывод. В ОРИТН выявлена высокая распространённость мультирезистентных штаммов, прежде всего S. epidermidis, K. pneumoniae, E. cloacae и E. faecium. Локальный мониторинг антибиотикорезистентности необходим для обоснования эмпирической терапии и контроля распространения резистентных микроорганизмов.

ТЕЛЬЦА МАРИНЕСКО, НЕЙРОМЕЛАНИН И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ СТАТУС НЕЙРОНОВ ЧЕРНОГО ВЕЩЕСТВА ГОЛОВНОГО МОЗГА

Коржевский Д.Э., Григорьев И.П., Гусельникова В.В.
Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Вопрос об адекватном морфологическом определении функционального статуса нейронов черного вещества головного мозга лабораторных животных и человека имеет непреходящее значение в связи с необходимостью разработки и верификации новых экспериментальных моделей болезни Паркинсона – тяжелого нейродегенеративного заболевания, при котором поражаются нервные клетки, синтезирующие дофамин. Ключевой особенностью дофаминергических нейронов черного вещества мозга человека является накопление в этих клетках цитоплазматических гранул нейромеланина, уникального эндогенного пигмента. Еще одной особенностью служит присутствие в ядре части дофаминергических нейронов специфических внутриядерных структур – телец Маринеско. До настоящего времени функция данных телец, равно как и функция нейромеланина, остается неясной. Цель настоящего сообщения состоит в обобщении собственных и литературных данных, полученных при исследовании телец Маринеско и скоплений нейромеланина в черном веществе головного мозга человека.

Материалом для исследования служили образцы среднего мозга мужчин и женщин в возрасте от 25 до 87 лет, причина смерти которых не связана с заболеваниями и повреждениями головного мозга. Выявление дофаминергических нейронов проводили с использованием иммуногистохимической реакции на тирозингидроксилазу (ТГ). Для выявления телец Маринеско была проведена иммуноцитохимическая реакция на убиквитин, часть срезов подкрашивали крезиловым фиолетовым.

Показано, что в черном веществе у человека присутствуют три вида нейронов, различающиеся по соотношению распределения нейромеланина и ТГ: содержащие ТГ и нейромеланин, содержащие только нейромеланин и, наконец, нейроны, в которых не выявлено ни ТГ, ни нейромеланина. При постановке иммуногистохимической реакции на убиквитин отмечено, что до 20% нейронов черного вещества содержат тельца Маринеско. При этом тельца присутствуют в ядрах исключительно дофаминергических нейронов. Для телец Маринеско характерны полиморфизм и различный характер ассоциации друг с другом и с ядрышком. Количество телец варьирует от 1 до 6 в пределах одного ядра. Большинство телец имеют правильную круглую, реже — овальную форму. Размер телец чаще всего составляет 2-4 мкм в диаметре, при этом максимальный размер внутриядерного тельца составил 6,7×5,1 мкм. Примерно в 30% случаев одно или несколько из выявленных в ядре телец Маринеско непосредственно примыкали к ядрышку.

Представляется весьма вероятным, что нейромеланин и тельца Маринеско связаны с функциональным статусом нигральных нейронов и при определенных условиях могут служить предикторами нейродегенерации. Неясность функции и отсутствие указаний на прямую вовлеченность в нейродегенеративный процесс определяют необходимость более глубокого анализа взаимосвязей этих двух показателей, выявление их возможной корреляции с активностью ядрышкового аппарата, и впоследствии проведение транскриптомного анализа единичных клеток.

ИЗМЕНЕНИЕ ОБМЕНА МОНОАМИНОВ В ГИППОКАМПЕ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВИСЦЕРАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ

Косинов З.А.[1], Клименко Д.И.[1], Фролкова К.А.[1], Ганапольский В.П.[1], Карпова И.В.[2]

[1]Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
[2]Институт экспериментальной медицины,
Санкт-Петербург

Влияние висцеральной патологии, сопровождающейся хронической болью, на обмен основных медиаторов в головном мозге изучено недостаточно. Известно, что у пациентов, страдающих хроническим болевым синдромом, отмечается снижение когнитивных функций, которое выражается в нарушении памяти и процессов обучения. Одним из центральных элементов лимбической системы, связанных с реализацией механизмов запоминания, принято считать гиппокамп. Целью работы было выяснить, как изменяется обмен моноаминов в гиипокампе крыс при экспериментальной висцеральной патологии.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 12 самцах белых беспородных крыс массой 220-410 г. Все животные были случайным образом разделены на 2 группы. Крыс интактной группы (n=6) содержали в стандартных условиях, не подвергая никаким воздействиям. На животных экспериментальной группы (n=6) моделировали асептический перитонит, для чего в течение 7 дней крысам ежедневно внутрибрюшинно вводили персиковое масло (ПМ) в расчете 0,1 мл/100 г массы животного. На следующие день после окончания курса введения ПМ всех животных декапитировали. Из мозга выделяли левый и правый гиппокамп. Содержание дофамина (ДА), серотонина (5-ГТ) и их метаболитов: диоксифенилуксусной (ДОФУК), гомованилиновой (ГВК) и 5-индолилуксусной (5-ГИУК) кислот – определяли методом ВЭЖХ на хроматографе Shimadzu (Япония) с электрохимическим детектором Decade elite (Нидерланды). Соответствующие показатели экспериментальной и контрольной групп сравнивали по критерию Манна-Уитни. Различия считались статистически значимыми при $p<0,05$.

Результаты. В левом гиппокампе у животных экспериментальной группы по сравнению с контрольной, уровень экстраклеточного метаболита ДА – ГВК был ниже ($p<0,05$), что свидетельствует об уменьшении выброса ДА из термиралей аксонов. У крыс опытной группы как в правом, так и в левом гиппокампе обнаруживалось значимое превышение значения соотношения 5-ГИУК/5-ГТ ($p<0,05$) относительно контрольных животных.

Выводы. Таким образом, при экспериментальной висцеральной патологии в гиппокампе обмен 5-ГТ возрастает билатерально, а выброс ДА снижается только с левой стороны. Полученные результаты могут свидетельствовать об асимметричном влиянии хронической висцеральной боли на обмен моноаминов в головном мозге, что требует дальнейших исследований.

* * *

ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ В СТЕРОИДНОМ ОТВЕТЕ ЗРЕЛЫХ ОСОБЕЙ DANIO RERIO НА ЭКЗОГЕННЫЕ КИССПЕПТИНЫ

Костина М.И., Афанасьева И.А., Зайцева П.Е., Блаженко А.А.
Институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург

Аннотация. *Кисспептин является ключевым регулятором гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси у позвоночных. У костистых рыб, включая Danio rerio существуют два паралогичных гена — kiss1 и kiss2, продукты которых демонстрируют функциональную дивергенцию. Цель работы — изучение влияния синтетических аналогов кисспептина-1 (САК1) и кисспептина-2 (САК2) на уровни прогестерона, тестостерона и кортизола у зрелых самцов и самок Danio rerio в постинерестовый период. Эксперимент выполнен на половозрелых особях (6–8 месяцев) через 24 часа после нереста. Рыбам интрацеребрально вводили САК1 или САК2 в дозах 1 и 4 мкг. Концентрации гормонов определяли методом ИФА. У самцов оба пептида снижали уровни прогестерона и тестостерона и не влияли на кортизол. У самок САК1 в дозе 4 мкг повышал кортизол и снижал прогестерон; в дозе 1 мкг оба пептида увеличивали тестостерон. Результаты свидетельствуют о половом диморфизме стероидогенного ответа на экзогенные кисспептины и подтверждают необходимость учёта пола при оценке гормон-модулирующих соединений.*

Ключевые слова: *Danio rerio, кисспептин, прогестерон, тестостерон, кортизол, половой диморфизм, стероидогенез.*

Кисспептин представляет собой нейропептид, выполняющий функцию ключевого регулятора гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси у позвоночных. У млекопитающих кисспептин кодируется единственным геном KISS1. Однако у костистых рыб, включая модельный вид *Danio rerio*, в результате дупликации генома закрепились два паралогичных гена — kiss1 и kiss2. Исследования на *Danio rerio* показали, что рецепторы, кодируемые генами kiss1ra и kiss1rb, имеют различную аффинность к пептидам kiss1 и kiss2: рецептор, кодируемый геном kiss1ra, активируется как kiss1, так и kiss2, тогда как kiss1rb кодирует рецептор с предпочтением к kiss1.

Согласно современным данным, продукты этих генов демонстрируют функциональную дивергенцию: kiss2 преимущественно ассоциирован с регуляцией репродукции, тогда как kiss1 вовлечён в модуляцию стресс-ответа и эмоционального поведения. У Danio rerio kiss1 экспрессируется преимущественно в нейронах вентромедиальной хабенулы — структуре, играющей ключевую роль в обработке стрессовых сигналов, регуляции страха и аверсивного поведения. Kiss2, напротив, локализуется преимущественно в гипоталамических ядрах, связанных с регуляцией репродукции. Таким образом, анатомическая организация кисспептиновой системы у *Danio rerio* подразумевает функциональное разделение, что делает этот вид уникальной моделью для изучения эволюционной специализации дуплицированных генов.

Особый интерес представляет изучение действия кисспептинов у зрелых особей с учётом пола и репродуктивного статуса.

В доклинических исследованиях сохраняется устоявшаяся практика преимущественного использования самцов, что позволяет снизить вариабельность, обусловленную эстральным циклом у самок, однако приводит к формированию доказательной базы, смещённой в сторону мужского фенотипа, и не позволяет в полной мере охарактеризовать чувствительность женского организма к фармакологическим агентам. Это особенно критично для гормон-модулирующих соединений, к числу которых относятся аналоги кисспептина, поскольку их действие непосредственно связано с репродуктивной системой.

Для корректной интерпретации эффектов экзогенных пептидов необходимо учитывать естественную динамику стероидных гормонов, связанную с репродуктивным циклом. В доступной литературе отсутствуют систематические данные об изменении уровней прогестерона, тестостерона и кортизола у самок Danio rerio на разных этапах нерестового процесса — от созревания половых клеток до постинерестового восстановления. Без учёта этих фоновых колебаний невозможно однозначно интерпретировать изменения гормонального профиля, вызванные введением CAK1 и CAK2. В связи с этим нами было проведено предварительное исследование гормональной динамики самок Danio rerio на разных фазах нерестового цикла, что позволило выбрать оптимальную временную точку для основного эксперимента.

Цель. Оценить и сравнить влияние синтетических аналогов кисспептина-1 (CAK1) и кисспептина-2 (CAK2) на уровни прогестерона, тестостерона и кортизола у зрелых самцов и самок Danio rerio в постинерестовый период в зависимости от дозы пептида и пола особи.

Материалы и методы. Исследование выполнено на взрослых половозрелых особях *Danio rerio* дикого типа в возрасте 6–8 месяцев с массой тела 0,42 ± 0,07 г. Рыб содержали в стандартных аквариумных системах при температуре 23°C и фотопериоде 12 часов света / 12 часов темноты. Кормление осуществляли дважды в сутки коммерческим кормом Tetramin Tropical Flakes (Tetra, Германия). Все манипуляции с животными одобрены локальным этическим комитетом ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта» (протокол №141 от 04.03.2025).

Для выбора оптимальной фазы репродуктивного цикла для введения пептидов было проведено предварительное исследование динамики стероидных гормонов у самок *Danio rerio*. На основании результатов предварительного эксперимента для основного исследования были отобраны самки через 24 часа после нереста, у которых наблюдалась стабилизация гормонального фона.

Синтетические аналоги кисспептинов (CAK1: NVAYYNLNSFGLRY-NH_2; CAK2: FNYNPFGLRF-NH_2) получали методом твердофазного синтеза с применением защитных Fmoc-групп в отделе общей патологии и патологической физиологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» (Санкт-Петербург). По данным ВЭЖХ, чистота каждого из использованных в работе пептидов превышала 98%.

Перед экспериментом особей разделяли по полу по фенотипическим отличиям. Рыб подвергали анестезии раствором лидокаина (40 мкг/л) в течение 5–6 минут до утраты ориентировочного рефлекса. Обездвиженную рыбу фиксировали в специальном углублении, выполненном во влажной губке, температура которой соответствовала привычной для Danio rerio (23–25°C). После фиксации проводили интрацеребральную инъекцию одного из исследуемых препаратов: контрольного раствора (0,9% NaCl), CAK1

или САК2 в дозах 1 или 4 мкг на особь. Дозировки пептидов были выбраны на основании данных литературы и результатов предварительных экспериментов. После инъекции рыбу возвращали в аквариум с чистой водой. Через 1 час после введения препарата рыб декапитировали, у каждой особи выделяли гонады и хвостовую мускулу. Образцы немедленно замораживали при -80°C. Общее количество экспериментальных животных составило 30 взрослых половозрелых самок и 30 половозрелых самцов.

Замороженные образцы тканей гомогенизировали с использованием криогенной мельницы Cryomill (Retsch, Германия) при температуре -198°C (охлаждение жидким азотом). Полученные гомогенаты ресуспендировали в калий-натрий-фосфатном буферном растворе (pH 7,4) объёмом 0,6 мл. Образцы замораживали и хранили при -80°C. Концентрации прогестерона, тестостерона и кортизола в образцах определяли методом твердофазного конкурентного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих диагностических наборов «СтероидИФА-прогестерон», «СтероидИФА-тестостерон» и «СтероидИФА-кортизол». Все процедуры выполняли строго согласно инструкции производителя. Измерение оптической плотности проводили с помощью планшетного ридера Synergy 2 (Biotek, США) при длине волны 450 нм. Расчёт концентрации гормонов осуществляли с использованием онлайн-калькулятора ELISA (Arigo Biolaboratories Corp., Тайвань) путём построения калибровочной кривой в полулогарифмических координатах. Концентрацию общего белка в образцах измеряли колориметрическим методом Бредфорда. Результаты количественного анализа выражали в виде отношения содержания гормона к содержанию белка — пикограмм гормона на микрограмм общего белка (пг/мкг).

Статистический анализ выполняли с использованием программного пакета GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, США). На первом этапе проверяли характер распределения данных с помощью критерия Шапиро–Уилка (для малых выборок). При соответствии распределения нормальному применяли параметрические методы: для множественных сравнений — однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с последующим апостериорным тестом Тьюки, для парных сравнений — t-критерий Стьюдента. При отклонении распределения от нормального использовали непараметрические методы: для множественных сравнений — критерий Краскела–Уоллиса с апостериорным тестом Данна, для парных сравнений — U-критерий Манна–Уитни. Статистически значимыми считали различия при уровне значимости $p < 0,05$. Все данные представлены как среднее значение ± стандартное отклонение (Mean ± SD) или как медиана и межквартильный размах для данных, не соответствующих нормальному распределению.

Результаты. При введении САК1 и САК2 самцам в дозах 1 и 4 мкг было отмечено статистически значимое снижение уровня тестостерона в каждой экспериментальной группе по сравнению с контролем. Аналогичная тенденция наблюдалась в отношении прогестерона: все исследованные дозы обоих пептидов вызывали снижение его концентрации. Уровень кортизола у самцов статистически значимо не изменялся при введении пептидов, за исключением группы, получавшей САК2 в дозе 1 мкг, где отмечено увеличение кортизола по сравнению с группой, получавшей САК1 в той же дозе. Таким образом, у самцов оба пептида оказывали преимущественно ингибирующее действие на уровень половых стероидов и не влияли на кортизол, что может отражать доминирующую роль кисспептиновой системы в регуляции стероидогенеза у самцов в постинерестовый период.

У самок введение CAK1 в дозе 4 мкг приводило к статистически значимому повышению уровня кортизола и снижению уровня прогестерона по сравнению с контрольной группой. При введении 1 мкг как CAK1, так и CAK2 наблюдалось увеличение уровня тестостерона. Введение CAK2 в дозе 4 мкг также сопровождалось повышением уровня кортизола. При этом в случае оценки уровня прогестерона у самок было отмечено его снижение в группе, получавших 4 мкг CAK1. Важно отметить, что в контрольной группе самок (введение физиологического раствора) уровень кортизола оказался выше, чем у интактных особей, что указывает на развитие стресс-подобной реакции в ответ на процедуру инъекции, однако статистически значимых различий между этими группами выявлено не было. Тем не менее, даже незначительный сдвиг уровня кортизола оказался достаточным для подавления синтеза половых стероидов.

Полученные данные свидетельствуют о выраженных различиях в реакции на экзогенные кисспептины у самцов и самок *Danio rerio* в постинерестовый период. У самцов оба пептида ингибировали уровень половых стероидов, тогда как у самок наблюдались как стимулирующие (тестостерон при низкой дозе), так и стресс-индуцирующие (кортизол при высокой дозе CAK1) эффекты. Различия в чувствительности к CAK1 и CAK2 у самцов и самок могут отражать как особенности рецепторного аппарата, так и различия в исходном гормональном фоне и регуляторных механизмах обратной связи. Учитывая, что у самок контрольной группы наблюдалось повышение уровня кортизола, можно предположить, что стресс-индуцированное изменение гормонального фона может модулировать чувствительность к экзогенным кисспептинам. Полученные данные согласуются с представлениями о функциональной дивергенции кисспептинов у рыб и демонстрируют половой диморфизм стероидогенного ответа на экзогенные пептиды.

Выводы. Результаты исследования свидетельствуют о различиях в реакции на экзогенные кисспептины у самцов и самок *Danio rerio* в постинерестовый период. У самцов оба пептида ингибируют уровень половых стероидов, тогда как у самок выявлены дозозависимые эффекты с активацией стрессовой оси при высокой дозе CAK1. Полученные данные подтверждают необходимость учёта пола при оценке гормон-модулирующих соединений и указывают на важность сравнительного изучения действия кисспептинов на особях разного пола в доклинических исследованиях. Разработанная модель открывает широкие перспективы для дальнейшего и более детального исследования роли пептидного сигналинга в биологии репродукции и стресс-реакции у позвоночных.

* * *

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ИМПЛАНТАТ-АССОЦИИРОВАННЫХ ИНФЕКЦИЙ

Кренев И.А.[1], Владимирова Е.В.[1], Сухарева М.С.[1], Божкова С.А.[2], Гордина Е.М.[2], Комлев А.С.[1], Егорова Е.В.[1], Берлов М.Н.[1], Попова Ю.О.[1], Искровский С.В.[3], Шамова О.В.[1], Эргашев О.Н.[1]

[1]Институт экспериментальной медицины,
[2]НМИЦ травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена,
[3]ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова,
Санкт-Петербург

Имплантат-ассоциированные инфекции (ИАИ) – распространённые и тяжёлые осложнения ортопедических операций. Перспективный подход к их профилактике – покрытие поверхности имплантата антимикробными агентами, такими как пептиды. Данный класс соединений известен низким потенциалом провоцировать антибиотикорезистентность со стороны патогенов.

Цель. Оценка эффективности действия антимикробных пептидов и их композиций против актуальных возбудителей ИАИ.

Материалы и методы. Штаммы бактерий *Acinetobacter baumannii, Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* (MRSA) и *S. epidermidis* (MRSE) были получены от пациентов с ИАИ. Пептиды PR-39, RFR-ChBac3.4(1-14), протегрин-1, G-ареницин-2[W2L, V8R] были получены методом твердофазного синтеза. Антимикробную активность оценивали методом серийных разведений в жидкой питательной среде в планшете. Также пептиды наносили на поверхности пластинок из титана (диаметр 0,6 см, площадь поверхности 0,28 см2) методом высушивания капли раствора, в качестве растворителя применяли этиловый спирт как быстроиспаряющуюся жидкость. После добавления суспензии бактерий на обработанные пластинки образцы помещали в питательную среду и оценивали рост бактерий визуально, а также определяли метаболическую активность в ресазуриновом тесте.

Результаты. Протегрин-1 и G-ареницин-2[W2L, V8R] продемонстрировали наибольшую эффективность антибактериального действия. Их средние геометрические минимальных ингибирующих концентраций в жидкой среде составили 0,3 мкМ и 0,4 мкМ, а минимальные концентрации для подавления всех исследованных штаммов бактерий на пластинках – ~3 мкг/см2 и ~15 мкг/см2. Протегрин-1 и PR-39 проявляли синергетическое действие в жидкой среде, но не на поверхности титановых пластинок.

Выводы. Изученные пептиды могут быть рекомендованы для последующей разработки антибактериальных покрытий медицинских металлоконструкций с целью профилактики ИАИ.

* * *

ОЦЕНКА ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА К ВИРУСАМ ГРИППА A/H2N2 У ЛИЦ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ СЕЗОННЫМИ ТРЕХВАЛЕНТНЫМИ ВАКЦИНАМИ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО СЕЗОНА 2023-2024 ГГ.

Крылова Э.А.[1], Дешева Ю.А.[1], Кударь П.А.[1], Соколовский Д.Д.[1], Стукова М.А.[2], Сергеева М.В.[2]

[1]Институт экспериментальной медицины,
[2]НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева,
Санкт-Петербург

Актуальность. Существует угроза возвращения вируса гриппа субтипа A/H2N2, вызвавшего пандемию 1957 года. Большая часть населения сейчас иммунологически «наивна» к нему. Из-за персистенции вируса в популяциях птиц и свиней сохраняются риски новой пандемии. Текущие сезонные вакцины не формируют перекрестный иммунитет к H2, поэтому для надежной защиты необходимо создание вакцин нового поколения со стеблевыми доменами гемагглютинина.

Цель. Оценка гуморального иммунного ответа у лиц двух возрастных когорт (≤ 60 лет и > 60 лет) до и после вакцинации сезонными вакцинами с использованием антигенов штаммов вируса гриппа A/H2N2 (A/Ленинград/134/17/57 и A/Москва/21/17/65).

Материалы и методы. Исследованы сыворотки крови 128 пациентов: 77 человек ≤ 60 лет и > 51 человек 60 лет. Отбор образцов проводили до вакцинации, через 28 дней, 3 и 12 после иммунизации гриппозными вакцинами (состав ВОЗ для Северного полушария, 2023-2024 гг.). Титры антител к штаммам вируса гриппа A/H2N2 (A/Ленинград/134/17/57 и A/Москва/21/17/65) определяли в РТГА по рекомендациями ВОЗ [WHO, 2011]. Сероконверсию определяли как четырехкратное и более прирост титра антител. Титр ≥1:40 принимали за порог серопротекции – международный коррелят защиты [Hobson et al., 1972].

Результаты и обсуждение. До вакцинации серопротекция обнаружена лишь у 2% лиц (преимущественно старше 60 лет). После иммунизации к штамму A/Ленинград/134/17/57 отмечен минимальный рост геометрических титров (СГТ) на 28-й день. К штамму A/Москва/21/17/65 значимых изменений на 28-й день не выявлено, но зафиксировано нарастание титров через 3 и 12 месяцев. Наиболее высокие титры (до 1:400) регистрировались у лиц > 60 лет, в то время как когорта ≤ 60 лет оставалась серонегативной. Это подтверждает теорию антигенного импринтинга: популяция лучше «запоминает» финальные варианты вируса, прошедшие антигенный дрейф.

Выводы. Население младше 60 лет является иммунологически «наивным» в отношении подтипа A/H2N2, тогда как лица старше 60 лет обладают базовым иммунитетом против штаммов позднего периода циркуляции. Титры к штамму A/Москва/21/17/65 исходно и после вакцинации значимо выше, чем к A/Ленинград/134/17/57, что рассматривается как проявление антигенного импринтинга. Сохраняющийся в течение года низкий уровень СГТ указывает на слабую эффективность текущих схем иммунизации против H2N2, так как доступные сезонные препараты не обеспечивают выработку защитных титров антител к этому подтипу.

ГУМОРАЛЬНЫЙ И КЛЕТОЧНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ НА ВИРУС ГРИППА A/H2N2 У ПАЦИЕНТОВ РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП

Кударь П.А., Соколовский Д.Д., Кудрявцев И.В., Трулев А.С., Матвеев Г.А., Дешева Ю.А.
Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Введение. Предшествующий иммунный опыт, сформированный у пожилых людей в период циркуляции пандемического вируса гриппа A/H2N2 в 1957–1968 гг., может определять особенности их текущего ответа на родственные антигены.

Цель. Изучение особенностей гуморального и Т-клеточного ответа к архивным штаммам вируса гриппа A/H2N2 у лиц различного возраста.

Материалы и методы. Уровни антител к гемагглютинину (HA) и нейраминидазе (NA) вирусов гриппа A/H2N2, A/H1N1 и A/H3N2 у 33 пациентов различных возрастных групп изучались в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) и иммуноферментном лектиновом тесте. Продукцию внутриклеточных цитокинов $CD8^+$ и $CD4^+$ Т-клетками оценивали методом проточной цитофлуориметрии после стимуляции мононуклеаров периферической крови (МПК) пептидами консервативных белков NA и нуклеопротеина (NP) вируса гриппа A/H2N2.

Результаты и обсуждение. У лиц старше 60 лет по сравнению с группой 18-59 лет титры к архивным штаммам A/H2N2 (особенно к штамму 1965 г.) были достоверно выше, а к актуальному вакцинному штамму A/H3N2 – существенно ниже. Значимых различий в уровнях антител к HA и NA вируса A/H1N1 между группами не обнаружено.

На клеточном уровне у пациентов старшей возрастной группы при стимуляции пептидами NA зафиксирован достоверный прирост доли цитотоксических Т-клеток памяти, продуцирующих TNF-α^+, а также прослеживался тренд к увеличению доли TNF-α^+ клеток среди $CD4^+$ и среди $CD8^+$ пулов при стимуляции белком NP.

Корреляционный анализ показал, что у лиц младше 60 лет выявлена слабая отрицательная связь между уровнем антител к NA подтипа N1 и IFN-γ, тогда как у пожилых людей выявлена связь высокой силы (rs=0,8). Для N2 значимых возрастных изменений не обнаружено. Это может указывать на перестройку взаимодействия гуморального и Т-клеточного ответа на NA при старении, возможно, вследствие ослабления иммунорегуляции или изменения Т-фолликулярных хелперов. У пожилых также отмечена тенденция к повышению IFN-γ^+ и IL-2^+ клеток, что говорит о компенсаторном усилении эффекторных функций $CD8^+$ Т-клеток памяти к NA.

Вывод. У лиц старше 60 лет снижается выработка антител к современному компоненту A/H3N2, но сохраняется пул мультифункциональных Т-клеток памяти к консервативным белкам вышедшего из циркуляции подтипа A/H2N2, обеспечивая потенциал гетеросубтипической защиты. Также выявлена перестройка координации гуморального ответа на NA и функции Т-клеток, отражающая реорганизацию Т-клеточного звена иммунитета при старении.

* * *

МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ СЕЗОННОГО АФФЕКТИВНОГО РАССТРОЙСТВА

Курбаниязова Ш.Э.
Университет Аль-Фраганус,
Ташкент, Узбекистан

Сезонное аффективное расстройство представляет собой актуальную проблему современной психиатрии в связи с его влиянием на эмоциональное состояние, работоспособность и качество жизни пациентов, а также недостаточной изученностью молекулярных механизмов, лежащих в основе сезонных колебаний аффективной симптоматики. Исследование роли нарушений циркадной регуляции, мелатонинергической и серотонинергической систем позволяет расширить представления о патогенезе сезонной депрессии и определить потенциальные биомаркеры и мишени для её ранней диагностики и персонализированной профилактики и терапии. Изучались основные молекулярно-биологические механизмы развития сезонного аффективного расстройства и определить роль нарушений циркадной регуляции, мелатонинергической и серотонинергической нейротрансмиссии в формировании сезонной депрессивной симптоматики.

В исследование были включены 60 пациентов в возрасте от 18 до 55 лет. Основную группу составили 30 пациентов с депрессивными расстройствами, имеющими выраженный сезонный характер с ухудшением состояния в осенне-зимний период, контрольную группу — 30 пациентов с депрессивными расстройствами без четко выраженной сезонности. Для оценки выраженности сезонных колебаний настроения и поведения использовался опросник Seasonal Pattern Assessment Questionnaire (SPAQ) с определением Global Seasonality Score (GSS), выраженность депрессивной симптоматики оценивалась по шкале Hamilton Depression Rating Scale (HDRS-17). Дополнительно изучались особенности сна и циркадной регуляции с помощью дневника сна и оценки хронотипа. Полученные показатели сопоставлялись между группами, а также анализировались корреляционные связи между выраженностью сезонности, уровнем депрессии и нарушениями циркадного ритма.

У пациентов с сезонным характером депрессии выявлены более высокие показатели общей сезонности по SPAQ-GSS и более выраженная депрессивная симптоматика по HDRS-17 в сравнении с пациентами без выраженной сезонности. В основной группе также отмечалась большая частота нарушений сна, склонность к вечернему хронотипу. Полученные данные свидетельствуют о возможном участии недостаточной световой экспозиции, нарушений циркадной регуляции в формировании сезонной аффективной симптоматики.

Проведённое исследование показало, что сезонный характер депрессивных расстройств ассоциирован с более выраженной депрессивной симптоматикой, нарушениями сна и циркадной регуляции. Полученные данные позволяют предположить взаимосвязь между сезонными изменениями светового режима, нарушением мелатонинергической и серотонинергической регуляции и формированием депрессивной симпто-

матики. Комплексная оценка клинических, циркадных и биохимических показателей может способствовать более раннему выявлению пациентов с сезонным аффективным расстройством и повышению эффективности профилактических и терапевтических мероприятий.

* * *

УРОВЕНЬ КОРТИЗОЛА И ДЕГИДРОЭПИАНДРОСТЕРОНА В СЛЮНЕ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ОСТРОГО СТРЕССА

Куропатенко М.В., Агапова Е.А., Новикова Т.С., Сергеев Т.В.
Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

В современном мире значительное число граждан в разных странах подвергается воздействию интенсивных стрессогенных факторов. У ряда из них впоследствии развивается синдром посттравматических стрессовых расстройств (ПТСР). Признаки этого синдрома подробно описаны в МКБ-10 и уточнены в МКБ-11. С целью углубленного понимания механизмов формирования и поддержания ПТСР активно изучаются нейроэндокринные показатели, однако работы, описывающие динамику саливарной концентрации кортизола и дегидроэпиандростерона (ДГЭА) в зависимости от реакции лиц с ПТСР на повседневные стрессовые нагрузки, крайне немногочисленны.

Цель. Определить динамику концентрации кортизола и ДГЭА на разных стадиях острого стресса в слюне лиц с ПТСР в сравнении с таковыми без ПТСР.

Материалы и методы. В исследуемую выборку после применения критериев включения и исключения вошло 92 человека, в т.ч. 41 мужчина и 51 женщина. На основании применения критериев диагностики ПТСР, изложенных в МКБ, установлено, что 39 человек имели нормальное сбалансированное состояние психики (контрольная группа); у 38 человек на момент исследования имелись указания на проживание стресса умеренной интенсивности (группа сравнения) и у 15 человек диагностировали постстрессовые расстройства (основная группа). Всем членам выборки было предъявлено сочетание повседневных стрессовых факторов умеренной интенсивности. В слюне определялась концентрация кортизола и ДГЭА до начала воздействия стрессоров, во время, сразу после и через 30 минут по окончании. Результаты представлены в виде медианы и квартилей: Me (Кв1;Кв3).

Результаты. В исходном состоянии до начала испытания саливарная концентрация кортизола в основной группе (4,18 (4,06;4,33) нг/мл) была статистически значимо выше, чем в контрольной группе здоровых (3,86 (3,39;4,05)). Такое же соотношение наблюдалось и в порции слюны, взятой непосредственно во время предъявления комплекса стрессоров (4,08 (4,00;4,13) и 3,80 (3,57;3,92)). Сразу по окончании стрессогенного воздействия уровни концентрации в этих группах были сходными, различалась динамика, наблюдавшаяся после спокойного отдыха в течение 30 минут. По сравнению с исходным уровнем в основной группе отмечалось статистически значимое снижение концентрации кортизола до 4,11 (3,85;4,14) нг/мл, а в контрольной группе концентрация кортизола умеренно возросла.

Иная динамика наблюдалась в отношении саливарной концентрации ДГЭА, которая в основной группе по сравнению с исходным уровнем (0,057 (0,053;0,062)пг/мл) к концу периода отдыха значимо снизилась (0,045 (0,039;0,048)) и была ниже, чем в контрольной группе (0,076 (0,058;0,086)).

В группе сравнения колебания концентрации кортизола и ДГЭА в слюне были незначительными, не зависимо от стадии острого стресса. После получасового отдыха отмечалось снижение саливарного уровня обоих аналитов.

Выводы. Показано, что у лиц с ПТСР уровень кортизола и ДГЭА в слюне снижается в период воздействия комплекса острых стрессогенных факторов и не восстанавливается даже после получасового отдыха в спокойной обстановке, что свидетельствует о метаболических признаках дезадаптации и снижении адаптационного потенциала.

* * *

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МУТАЦИЙ ГЕМАГГЛЮТИНИНА ВИРУСА ГРИППА A(H3N2) ПОДКЛАДЫ K В ПРОЦЕССЕ АНТИГЕННОГО ДРЕЙФА

Курпяева М.О., Дешева Ю.А.
Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Актуальность. Вирус гриппа А подтипа H3N2 остаётся одним из наиболее значимых возбудителей сезонных респираторных инфекций. В середине 2025 года распространение получила подклада K (J.2.4.1). Штамм A/Хорватия/10136RV/2023, входивший в состав гриппозной вакцины для 2025/2026 гг. сезона гриппа, антигенно отличался от циркулировавших штаммов, что снизило эффективность вакцины.

Цель. Оценить влияние мутаций в HA вируса гриппа A(H3N2) подклады K на его структуру и стабильность.

Материалы и методы. Построение пространственной модели HA и картирование мутаций проводилось с использованием SWISS-MODEL. Карта электростатического потенциала создана в PyMOL Molecular Graphics System. Оценка влияния накопленных замен на стабильность тримера HA была проведена в программном пакете FoldX v4.

Результаты и обсуждение. В ходе сравнения антигенной структуры HA штамма A/Хорватия/10136RV/2023 и HA дрейфового штамма A/Дарвин/1454/2025 выявлено 12. В совокупности мутации T135K, N145S, N158D, K189R критически изменили локальный электростатический заряд и пространственную конфигурацию эпитопов головки HA, что приводит к значительному падению аффинности антител к более ранним вариантам. Сравнительный анализ электростатических поверхностей HA так же показал, что синергический эффект данных замен привёл к поляризации эпитопов. Замена T135K и сохранение сильного базового заряда в позиции K189R привели к слиянию индивидуальных электростатических очагов. Визуализирована обширная зона сплошного положительного потенциала, окружающая верхний край RBS. Этот сдвиг в электростатическом ландшафте RBS снижает комплементарность антител класса IgG, чьи CDR-петли часто несут положительный заряд. Анализ полных значений внутренней энергии Гиббса выявил термодинамическую стабилизацию пространственной структуры HA штамма A/Дарвин/1454/2025.

Выводы. Сравнительный биоинформатический анализ зафиксировал кумулятивный энергетический эффект комплекса мутаций подклады K, обеспечивающий стабилизацию структуры HA за счёт формирования ионных солевых мостиков и оптимизации сети водородных связей. Инверсия локальных электростатических зарядов в сайтах кластерных переходов HA1 в сочетании с реструктуризацией сайтов N-гликозилирования обосновывает высокий риск ускользания подклады K от популяционного гуморального иммунитета. Таким образом, комплекс мутаций штамма A/Дарвин/1454/2025 характеризуется отсутствием выраженной мутационной цены и обеспечивает преимущество новой циркулирующей линии вируса.

* * *

МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДНК НАСЛЕДУЕТСЯ ПО ОТЦОВСКОЙ ЛИНИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА МЫШАХ: ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ OXPHOS

Кустова М.Е.[1], Соколова В.А.[1], Корчагина Н.М.[1], Бобков Д.Е.[2], Васильев В.Б.[1]

[1]Институт экспериментальной медицины,
[2]Институт цитологии РАН,
Санкт-Петербург

Понимание механизмов, лежащих в основе наследования митохондриальной ДНК (мтДНК), имеет фундаментальное значение для разъяснения принципов эволюции, генетики и репродуктивной биологии у млекопитающих. Давно устоявшаяся парадигма исключительно материнского наследования мтДНК в последние десятилетия всё чаще ставится под сомнение сообщениями о редких случаях бипарентальной передачи как у людей, так и у животных. Развитие вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), таких как интрацитоплазматическая инъекция сперматозоидов (ИЦИС) и терапия замены митохондрий (ТЗМ), может повышать риск передачи мтДНК по отцовской линии, что может иметь последствия для здоровья и генетической стабильности потомства. Тем не менее клеточные и молекулярные механизмы, управляющие селективной элиминацией отцовских митохондрий, остаются мало изученными.

Была создана экспериментальная модель межвидового переноса мтДНК для демонстрации возможности устойчивой передачи чужеродной мтДНК по отцовской линии в условиях искусственной гетероплазмии. Эта модель позволяет исследовать биологические барьеры, которые обычно предотвращают бипарентальное наследование, а также потенциальные исключения из этих механизмов. Кроме того, такая модель позволяет исследовать потенциал передачи и персистентности гетерологичной (человеческой) митохондриальной ДНК через несколько поколений мышей. Для получения трансмитохондриальных мышей митохондрии выделяли из культуры клеток человеческой гепатомы (HepG2) и инъецировали в мышиные зиготы.

Полученные самцы (поколение F0) скрещивались с интактным самками для оценки передачи человеческой мтДНК их потомству. Идентификация эмбрионов и сперматозоидов, несущих человеческую мтДНК, проводилась с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР) с видоспецифичными праймерами с последующим полиакриламидным гель-электрофорезом. Частота трансмитохондриальных особей анализировалась статистически с 95% доверительных интервалов биномиальных пропорций (метод Уилсона) и оценкой тренда по поколениям (тест Кохрана–Армитаджа и логистическая регрессия). Было получено восемь трансмитохондриальных самцов F0, содержащих человеческую мтДНК. Стабильные линии были установлены от трёх из этих самцов (№ 3, 6 и 10), в которых человеческая мтДНК передавалась по отцовской линии до поколений F8, F5 и F6 соответственно. Однако частота трансмитохондриальных (ТМ+) самцов значительно снизилась с 51,02% в F1 до 6,67% в F7. Сопоставимое снижение наблюдалось среди трансмитохондриальных эмбрионов - с 11,53% в F1 до 0,47% в F9.

Таким образом, была показана фундаментальная возможность долговременной передачи экзогенной мтДНК по отцовской линии у мышей, указывая на нарушение ме-

ханизмов, ответственных за элиминацию отцовских митохондрий после межвидового переноса. Однако постепенное исчезновение человеческой мтДНК через поколения предполагает вовлечение компенсаторных процессов, таких как пассивная утрата (генетический дрейф), митофагия или ядерно-митохондриальная геномная несовместимость. Эти результаты дают новое понимание исключений из правила материнского наследования мтДНК и предлагают экспериментальную основу для оценки рисков, связанных с репродуктивными технологиями, включающими манипуляции с митохондриями.

✶ ✶ ✶

BACTERIOCIN-PRODUCING LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM BRAZILIAN FERMENTED FOODS: SAFETY ASSESSMENT, ANTIMICROBIAL POTENTIAL, AND STABILITY

Lima Emília Maria França, Todorov Svetoslav Dimitrov
ProBacLab, Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo, SP, Brazil

Introduction. Lactic acid bacteria (LAB) are traditionally associated with food fermentation, contributing to beneficial characteristics. Some strains produce antimicrobial metabolites, such as bacteriocins, which are proteinaceous compounds with bactericidal or bacteriostatic activity, generally targeting microorganisms genetically related to producing strain. **Aim of study.** To identify novel bacteriocin-producing LAB from Brazilian fermented foods and explore their antimicrobial properties, safety aspects, and technological potential.

Materials and Methods. LAB were isolated from standard methods, classified based on morphological and biochemical tests, differentiated by repPCR and identified by 16S-rRNA sequencing. The isolates were screened for bacteriocin production against *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* strains using the spot-on-the-lawn assay. Strains safeties were assessed by antimicrobial susceptibility, hemolysis, proteolytic activity, mucin degradation, biogenic amine and gelatinase production. PCR was applied to detect virulence and beneficial genes. The bacteriocin activity was quantified in Arbitrary Units (AU/mL) against *L. monocytogenes* 103. Stability was evaluated under temperatures (8–121°C), pH (2.0–12.0), and in presence of chemical compounds.

Results. 1,100 isolates were obtained from around 50 products. Six bacteriocin-producing *Pediococcus pentosaceus* strains were selected regarding strong anti-*Listeria* activity and safety traits. Bacteriocin production started between 3-9h and the highest activity was observed for *P. pentosaceus* ST45Fu (12,800 AU/mL). Detection of PA-1 gene suggested production of pediocin-like bacteriocins. The compounds presented high stability under the different conditions tested.

Conclusions. This study highlights the potential of LAB as bacteriocin sources. The identification of safe strains with stable antimicrobial compounds reinforces their potential for application in food systems and health-related contexts.

Acknowledgments: Brazilian agencies FAPESP (2023/05394-9; 2024/13311-9; 2024/01721-8); and CNPq (201317/2026-5).

✶ ✶ ✶

ИНТРАНАЗАЛЬНАЯ ДОСТАВКА КИССПЕПТИНА-10 И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЕГО ЦЕНТРАЛЬНОГО ЭФФЕКТА

Литвинова М.В.[1], Лебедев А.А.[2], Бычков Е.Р.[2], Шабанов П.Д.[2]
[1]ИП Литвинова МВ,
[2]Институт экспериментальной медицины,
Санкт-Петербург

Актуальность. Кисспептины (KISS1) являются важными регуляторами репродуктивной системы, эмоциональных, когнитивных и поведенческих реакций. Ключевой проблемой современной фармакологии остается низкая проницаемость гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) для большинства нейроактивных пептидов, что ограничивает их потенциальное клиническое применение. Цель данной работы — комплексная оценка эффективности транспорта кисспептина-10 через ГЭБ и функциональная оценка его центрального действия после интраназального введения.

Методы. Исследование проведено на 45 мышах. Проницаемость ГЭБ оценивали методами in silico (Way2Drug, VEGA ZZ) и *in vitro* (УФ-спектрофотометрия для определения logP). Фармакологический анализ (*in vivo*) включал сравнение эффектов кисспептина-10 при интраназальном (0,1; 1; 10 мкг) и внутрибрюшинном (1; 10; 100 мкг) введении. Поведение животных анализировали с помощью тестов «открытое поле», «приподнятый крестообразный лабиринт» и «половая мотивация».

Результаты и обсуждение. Теоретические данные *in silico* и экспериментальные данные in vitro подтвердили низкую способность кисспептина-10 к пассивному прохождению через ГЭБ (logP = –0,79). Тем не менее, фармакологический анализ показал, что интраназальное введение обеспечивает выраженные центральные эффекты. Интраназальный кисспептин-10 вызывал статистически значимое повышение половой мотивации, увеличение горизонтальной и вертикальной двигательной активности, снижение уровня стресса и рост исследовательской активности у самцов мышей. Максимальный эффект наблюдался при дозе 10 мкг. Внутрибрюшинное введение (1 и 10 мкг) практически не влияло на поведение. Увеличение системной дозы до 100 мкг вызывало поведенческие сдвиги, однако их интенсивность была значительно ниже, чем при интраназальном введении 10 мкг.

Вывод. Интраназальный путь доставки кисспептина-10 Полученные данные подтверждают эффективность интраназальной стратегии для доставки некоторых нейроактивных пептидов и открывают перспективы использования кисспептина-10 в фармакологии для таргетной модуляции гипоталамических функций, диагностики нарушений репродуктивной оси и лечения нейроэндокринных патологий.

* * *

ВЛИЯНИЕ МАТЕРИНСКОЙ ЗАБОТЫ САМОК КРЫС С ПСИХИЧЕСКОЙ ТРАВМОЙ НА ФОРМИРОВАНИЕ ПСИХОНЕВРОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ПОТОМСТВА

Лобановская К.М., Апраксина Н.К., Абсалямова М.Т., Матвеевская П.А., Цикунов С.Г.

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Психическая травма матери является фактором риска нарушений развития потомства. Ключевым медиатором этих эффектов может выступать не только прямое внутриутробное воздействие, но и постнатальная материнская забота. Изучение вклада качества материнского ухода в формирование психоневрологического статуса потомства необходимо для разработки стратегий ранней коррекции.

Цель. Оценка влияния качества материнской заботы на психоневрологический статус потомства крыс, матери которых перенесли психическую травму.

Материалы и методы. Исследование выполнено на пятимесячных самках крыс Wistar и их потомстве. Животные были разделены на группы (n=30): потомство от интактных крыс (FC), потомство от самок с психической травмой (FVS). Витальный стресс моделировали обстоятельствами переживания ситуации гибели сородича от действий тигрового питона в течение 60 минут за месяц до наступления беременности. После родов регистрировали материнское поведение: частота и длительность груминга, облизывания, контакт с потомством («гнездование»), кормление, индекс лактации и жизнедеятельности. Поведенческое тестирование крысят проводили в «ПКЛ» (оценивали тревожность) и «ОП» (двигательную активность и исследовательское поведение) на 30-ые сутки. В течение месяца оценивали сформированность сенсорно-двигательных рефлексов у потомства. Статистический анализ проводили при помощи критерия Краскела–Уоллиса и Данна, $p<0,05$.

Результаты. Воздействие психогенной травмы на самок приводило к стойким депрессивно-подобным нарушениям, которые негативно сказывались на материнском поведении. У части самок крыс, переживших витальный стресс, наблюдалось увеличение латентного периода сбора первого детеныша, общего времени сбора крысят в гнездо, снижение продолжительности груминга детенышей, а также увеличение времени, проводимого вне гнезда. Индекс лактации и жизнеспособности потомства в группе FVS достоверно отличался от контрольных показателей. Потомство (FVS) с низкой материнской заботой характеризовалось повышенной тревожностью, угнетением двигательной активности и отставанием в формировании сенсорно-двигательных рефлексов по сравнению с контролем.

Выводы. Таким образом, снижение качества постнатальной материнской заботы, вызванное витальным стрессом у самок, приводит к нарушению психоневрологического развития потомства. Полученные данные обосновывают необходимость ранней психосоциальной поддержки матерей с психической травмой и разработки программ, направленных на улучшение материнско-детского взаимодействия.

Работа выполнена в рамках ГЗ на фундаментальные научные исследования (FGWG-2025-0019).

АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ВАГИНАЛЬНЫХ ЛАКТОБАЦИЛЛ КАК ФАКТОР КОЛОНИЗАЦИОННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ

Логинова О.П.
Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, Гомель, Беларусь

Лактобациллы являются основными представителями резидентной микробиоты влагалища и составляют около 95-98%. В основе механизмов колонизационной резистентности, реализуемых при участии лактобацилл, лежат межбактериальные взаимодействия антагонистического характера (Савченко Т.Н., 2011). Антагонистическая активность лактобацилл проявляется несколькими путями: конкуренцией за питательные вещества, конкуренцией за сайты адгезии и в продукции ингибирующих рот культуры-конкурента веществ. В процессе своей жизнедеятельности лактобациллы синтезируют молочную кислоту, перекись водорода, лизоцим и другие вещества, обладающие антибиотической активностью.

Цель. Изучить антагонистическую активность штаммов *Lactobacillus spp.* у женщин с цервикальной дисплазией.

Материал и методы. Материалом послужили культуры лактобацилл, выделенных из мазков влагалища от женщин с дисплазией шейки матки и от здоровых женщин (контрольная группа). Антагонистическую активность лактобацилл определяли с применение метода агаровых блоков. В качестве тест-культур, в отношении которых определялась антагонистическая активность использовали контрольные штаммы из американской коллекции микроорганизмов: *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212, *P. aeruginosa* ATCC 27853. На одной чашке Петри размещали по 6 агаровых блоков различных видов лактобацилл. Результат оценивали по истечении 72 часов. В случае чувствительности тест-культур к антибактериальному веществу лактобактерий - продуцентов вокруг агаровых блоков образовывалась зона задержки роста. Чем больше выделялось антибактериального вещества лактобактериями, тем больше был диаметр зоны задержки роста вокруг агарового блока с лактобактериями. Нечувствительные к антибиотическому веществу лактобацилл микроорганизмы вырастали на всей поверхности среды. Результат учитывали, измеряя зону задержки роста в мм (M ± m) и соотносили с зоной задержки роста вокруг контрольного штамма *L. acidophilus* ATCC 4356.

Результаты. По результатам исследования выявлено, что антагонистическая активность лактобактерий выше по отношению к *E. faecalis*, *E. coli* и *P. aeruginosa*. *L. gasseri*, *L. plantarum*, *L. crispatus*, *L. fermentum* обладали высокой антагонистической активностью по отношению как к грамотрицательным микроорганизмам, так и к грамположительным. Так, *L. plantarum* обладали наибольшей активностью по отношению к *E. faecalis*(20±2мм) и *S. aureus*(17±3мм), в сравнении с контрольным штаммом *L. acidophilus* ATCC 4356. Для контрольного штамма диаметр зон задержки роста составил по отношению к *S. aureus* 15±1мм, к *E. faecalis* 17±2мм. *Lactobacillus crispatus* проявляли более выраженную антагонистическую активность ко всем тест-штаммам, чем

L. gasseri, *L. plantarum* и *L. fermentum*. Диаметр зон задержки роста вокруг *L. crispatus* составили по отношению к *E. faecalis* - 20±3мм, к *S. aureus* - 18±1мм, к *E. coli* - 23±2мм, к *P. aeruginosa* - 19±3мм.

Отмечено, что у 15% штаммов лактобацилл, выделенных от женщин с дисплазией, была снижена антагонистическая активность в отношении всех условно-патогенных микроорганизмов. Диаметр зон задержки роста был ниже в сравнении с зонами для контрольного штамма *L. acidophilus* ATCC 4356. У лактобактерий от женщин с дисплазией не в полной мере реализуется защитная функция и снижается обеспечение колонизационной резистентности на слизистых влагалища.

Выводы. Таким образом, установлено, что в группе женщин с цервикальной дисплазией отмечено снижение антагонистической активности у 15% штаммов лактобацилл. Наибольшую антагонистическую активность проявляли штаммы *Lactobacillus crispatus* по отношению ко всем условно-патогенным микроорганизмам в двух исследуемых группах. Определение антагонистической активности лактобацилл является инструментом оценки реализации колонизационной резистентности на слизистых влагалища в отношении различных патогенов индивидуально у каждой женщины.

* * *

СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ПРОФИЛАКТИКА РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

Логинова О.П., Воропаева А.В.
Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, Гомель, Беларусь

Актуальность. Инфицирование ВПЧ ассоциировано с риском возникновения цервикальных интраэпителиальных неоплазий и инвазивных опухолей. Инфекционной причиной развития рака шейки матки (РШМ) является вирус папилломы человека высокого канцерогенного риска (ВПЧ ВКР). Доказана лидирующая роль 16,18 типов ВПЧ ВКР в развитии РШМ, но в последнее время уделяется внимание и другим генотипам. По данным мета-анализов, группу высокого онкогенного риска составляют 14 типов ВПЧ, которые являются представителями четырех филогенетических групп: А9 (16, 31, 33, 35, 52, 58 типы), А7 (18, 39, 45, 59, 68 типы), А5 (51 тип) и А6 (56 и 66 типы). Около 70% РШМ имеют тесную связь с 16 и 18 типами ВПЧ, еще 20% - с 31, 33, 35, 45, 52 и 58 типами. Однако развитие РШМ возможно предупредить с помощью вакцинации. Но остается не решенной проблема включения в календарь профилактических прививок вакцинации против ВПЧ ВКР.

Цель. Определить структуру встречаемости генотипов ВПЧ ВКР для принятия решения о вакцинации.

Материал и методы. В исследование включены 10536 женщин по программе скрининга рака шейки матки. Средний возраст обследуемых 41,68±12,8 лет. Обнаружение и генотипирование ВПЧ выполняли методом ПЦР Abbott Real Time HPV(США). Дальнейшее генотипирование ВПЧ проводилось с использованием набора реагентов "АмплиСенс ВПЧ ВКР генотип-FL"(РФ). В исследовании были применены общепринятые методы выражения результатов с использованием лицензионной программы STATISTICA 6.1 (StatSoft Inc., США, регистрационный номер GS-35F-589). При статистическом описании результатов встречаемость генотипов ВПЧ ВКР и результатов цитологического исследования выражали в относительных частотах (%). Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Исследования осуществлялись в рамках белорусско-итальянского проекта «Разработать и внедрить алгоритм скрининговых мероприятий по раннему выявлению рака шейки матки» (Ротари клуб «Адда Лодиджано-Италия) в лаборатории клеточных технологий ГУ «РНПЦ РМиЭЧ».

Результаты и обсуждение. Согласно проведенному ПЦР-исследованию, отрицательный результат на ВПЧ ВКР установлен в 9566(91,2%) образцах, а положительный в 922(8,8%) образцах. В 48 пробах получено ингибирование ПЦР-реакции, в связи с этим они исключены из исследования. Инфицированность ВПЧ ВКР составила 8,8%. В структуре общей инфицированности ВПЧ ВКР 16 тип выявлен в 291(2,8%), 18 тип – в 77(0,73%), другие генотипы ВПЧ ВКР – в 554(5,27%) образцах. Установлено преобладание 16 типа (57,9%) ВПЧ при HSIL и других генотипов при ASC-US (64,2%) и LSIL (60,6%). ВПЧ 52, 58, 31, 33 типов, выявлены в 43,6%, 59, 45 типы – в 23,1%, 56 тип – в 17,9%, 51 тип – в 15,4%.

Вывод. С учетом полученных результатов для достижения элиминации ВПЧ ВКР требуется проводить вакцинацию с учетом региональных особенностей распространенности ВПЧ ВКР. Вакцинация против ВПЧ ВКР является одним из самых эффективных способов предотвращения развития ВПЧ-ассоциированных злокачественных новообразований.

* * *

WHONET - ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ЛОКАЛЬНОГО МОНИТОРИНГА АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ

Логинова О.П.
Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, Гомель, Беларусь

Актуальность. Организация локального мониторинга антибиотикорезистентности в учреждении здравоохранения является важным моментом для своевременной оценки резистентности и изменения терапевтических подходов для надлежащего использования антимикробных препаратов (АМП). Непрерывный надзор за местными особенностями, в каждом отдельно взятом стационаре, чувствительности к противомикробным препаратам является обязательным условием борьбы с возникающей устойчивостью к антибиотикам. Для проведения локального мониторинга предложено использовать программное обеспечение WHONET. WHONET - это эффективная компьютерная программа управления и анализа данных микробиологических лабораторий, на основании которых возможно предоставить рекомендации по эмпирической терапии инфекций, предупреждать врачей о тенденциях устойчивости к противомикробным препаратам, определять решения в области лекарственной политики и профилактических мер.

Цель. Оценить возможность применения программного обеспечения WHONET для проведения локального мониторинга антибиотикорезистентности.

Материал и методы. Для проведения локального мониторинга была использована компьютерная программа WHONET. Проводился ежегодный мониторинг антибиотикорезистентности и определялась таксономическая структура микроорганизмов, выделенных из клинического материала в отделениях ГУ «РНПЦ РМиЭЧ». Мониторинг чувствительности проводили ежегодно, используя возможности программного обеспечения WHONET. На основании полученных результатов, подбирались препараты для эмпирической антибактериальной терапии в отделениях различного профиля. Особенно это актуально для пациентов с онкогематологическими заболеваниями, различными хроническими заболеваниями. Также по результатам локального мониторинга проводились мероприятия по оптимизации антимикробной терапии и мероприятия по инфекционному контролю.

Результаты и обсуждение. Программное обеспечение WHONET позволяет проводить выявление наиболее распространенных возбудителей в отделении/стационаре, определение спектра активности АМП в отношении выбранной группы микроорганизмов, позволяет представить результаты в виде наглядных диаграмм. Так, по результатам локального мониторинга с использованием WHONET установлены основные группы препаратов, к которым отмечена высокая резистентность. Так, например, у пациентов эндокринологического отделения, *E. coli*, выделенная при инфекциях мочевых путей обладала в 21,3% к цефуроксиму, в 36,2% - к амоксициллину, другие энтеробактерии - в 33,3% были резистентны к фторхинолонам. Установлена высокая резистентность *E. faecalis* (50%) к фторхинолонам. С применением программного обеспечения WHONET таким же образом проведена оценка резистентности ключевых возбудителей во всех отделениях

центра. Учитывая, полученные результаты по отделениям, ежегодно корректируется перечень антибактериальных препаратов для проведения эмпирической терапии. В связи с меняющимися трендами антибиотикорезистентности актуализируется перечень применяемых в стационаре антимикробных препаратов в отношении ключевых возбудителей инфекционных процессов.

Вывод. Результаты исследований свидетельствуют о том, что программное обеспечение WHONET подходит для проведения локального мониторинга антибиотикорезистентности в стационаре. Хорошо известно, что мониторинг антибактериальной резистентности - это систематический, непрерывный процесс сбора, анализа и представления данных по резистентности к антимикробным препаратам, что и позволяет выполнять программа WHONET. Полученная в рамках мониторинга информация имеет практические точки приложения, включая организацию терапевтических мероприятий и мероприятий по инфекционному контролю.

* * *

ФУКОКСАНТИН КАК ПЕРСПЕКТИВНОЕ СРЕДСТВО С АДАПТОГЕННОЙ И АНТИГИПОКСАНТНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Маклакова И.Ю.
Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург

Актуальность. В современной фармакологии сохраняется высокий интерес к поиску природных соединений с адаптогенными и антигипоксантными свойствами. Фукоксантин — природный каротиноид бурых водорослей — привлекает внимание благодаря способности модулировать ключевые сигнальные пути, ассоциированные с устойчивостью к стрессу и энергетическим гомеостазом.

Цель. Оценить фармакологические эффекты фукоксантина с позиции адаптогенной и антигипоксантной активности на экспериментальной модели естественного старения.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 90 аутбредных мышах-самцах линии ICR (CD-1). Животные опытной группы в возрасте 10 месяцев получали фукоксантин per os в дозе 20 мг/кг/сут в течение 8 месяцев. Оценивали продолжительность жизни, поведенческие реакции, биохимические и иммунологические показатели.

Результаты и обсуждение. В ходе исследования установлено, что длительное пероральное введение фукоксантина мышам линии ICR (CD-1) сопровождалось статистически значимым увеличением медианы продолжительности жизни на 9,5% (p=0,007) при снижении относительного риска смерти на 53–63%. В поведенческих тестах на фоне приема фукоксантина зафиксировано достоверное снижение уровня тревожности и повышение двигательной и исследовательской активности, что выражалось в увеличении времени, проведенного животными в открытых рукавах приподнятого крестообразного лабиринта и в центральной зоне открытого поля. На молекулярном уровне фукоксантин продемонстрировал способность уменьшать выраженность клеточного старения: в миокарде и селезенке отмечено снижение экспрессии ключевых маркеров сенесценции p16, p21 и p53 в диапазоне от 13 до 20%. Одновременно с этим зафиксировано достоверное снижение концентрации провоспалительных цитокинов IL-6, TNF-α и MCP-1 на 13–14%, что свидетельствует о подавлении системного хронического воспаления. Анализ показателей окислительного стресса выявил уменьшение уровня малонового диальдегида в гомогенате печени на 17% и повышение общей антиоксидантной активности плазмы крови на 24%. Кроме того, на фоне приема фукоксантина наблюдалась нормализация метаболического профиля, проявляющаяся в снижении концентрации глюкозы, триглицеридов и активности трансаминаз АСТ и АЛТ при одновременном повышении уровня липопротеидов высокой плотности.

Полученные данные позволяют рассматривать фукоксантин как соединение с выраженными адаптогенными и антигипоксантными свойствами. Его фармакологическая активность реализуется через активацию сигнальных путей Nrf2/ARE и PI3K/AKT, ингибирование NF-κB, а также активацию AMPK и SIRT1, что способствует повышению эндогенной антиоксидантной защиты, снижению системного воспаления и улучшению энергетического метаболизма. Способность фукоксантина ограничивать экспрессию HIF-1α в условиях гипоксии может предотвращать избыточный оксидативный стресс

и патологическое ремоделирование тканей. Коррекция поведенческих реакций на фоне системного уменьшения воспаления свидетельствует о нейропротективном компоненте действия. Комплексное влияние фукоксантина на механизмы стресс-резистентности, энергетический обмен и нейропротекцию позволяет рассматривать его как перспективное средство для повышения неспецифической резистентности организма при воздействии экстремальных факторов и в рамках профилактики возраст-ассоциированной патологии.

* * *

ИССЛЕДОВАНИЕ КЛЕТОЧНЫХ МЕХАНИЗМОВ НАРУШЕНИЯ РАЗВИТИЯ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ИНАКТИВАЦИИ ГЕНА COPII-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА

Медяник А.Д.[1], Целис суэскун Хуан камило[1], Кондакова Е.В.[2], Тарабыкин В.С.[2]
[1]ННГУ им. Н.И. Лобачевского,
[2]Университет «Сириус»,
Нижний Новгород

Нарушения развития нервной системы (NDD) являются широко распространенной, но малоизученной группой заболеваний. Патогенные варианты гена COPII-связывающего белка были выявлены как причина NDD у детей с недифференцированной умственной отсталостью, однако его роль в развитии нервной системы остается неизвестной. В наших предыдущих исследованиях было обнаружено, что потеря функции гена приводит к нарушению послойной организации развивающейся коры головного мозга. Однако, механизмы, лежащие в основе данного фенотипа, остаются неизученными.

Цель. Выявление клеточных механизмов, лежащих в основе нарушения развития коры головного мозга при инактивации гена COPII-связывающего белка.

Материалы и методы. Для этого были созданы и валидированы генетические конструкты на основе системы CRISPR/Cas9 для таргетной инактивации гена в геноме мыши. Конструкты вводили в латеральные желудочки эмбрионов мыши путем внутриутробной электропорации на 13.5 день эмбрионального развития (E13.5). Анализ образцов мозга осуществляли на стадиях E15.5 и E17.5 с применением иммуногистохимического окрашивания на маркеры пролиферации и клеточной спецификации.

Результаты. Для оценки пролиферативной активности использовали белок Ki67, который экспрессируется в клетке только в активных фазах клеточного цикла. Было обнаружено, что к E15.5 инактивация гена COPII-связывающего белка привела к значительному снижению доли пролиферирующих нейрональных предшественников: в опытной группе среди электропорированных клеток количество Ki67+-клеток было достоверно ниже по сравнению с контролем ($p<0.05$).

Далее был проведен анализ клеточной спецификации. Кора головного мозга формируется “изнутри-наружу”: первыми рождаются нейроны глубоких слоев коры и экспрессируют транскрипционный фактор Ctip2, тогда как нейроны верхних слоев формируются позже и экспрессируют белок Satb2. К концу нейрогенеза (E17,5) в контрольной группе большинство электропорированных клеток экспрессировали Satb2, тогда как доля Ctip2+ нейронов оставалась низкой. При инактивации гена наблюдалось достоверное снижение доли Satb2+ и увеличение числа Ctip2+ нейронов ($p<0,05$), что указывает на смещение клеточной судьбы в сторону нейронов глубоких слоев.

Выводы. Таким образом, снижение доли Ki67+ клеток указывает на уменьшение пула пролиферирующих предшественников и сопровождается смещением профиля нейрональной спецификации в сторону Ctip2+ нейронов. В связи с чем можно сделать вывод, что инактивация гена приводит к преждевременному выходу нейрональных предшественников из клеточного цикла и их ранней дифференцировке в нейроны глубоких слоев коры, что может быть причиной фенотипа нарушения распределения

нейронов по слоям коры. Полученные результаты позволяют уточнить роль гена COPII-связывающего белка в развитии коры головного мозга и выявить процессы, нарушения в которых приводят к патологиям у пациентов.

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта, реализуемого в рамках государственной программы федеральной территории «Сириус» «Научно-технологическое развитие федеральной территории «Сириус» (Соглашение №20-03 от 27 сентября 2024 г.).

✷ ✷ ✷

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ СИНТЕЗА 1,3-ДИМЕТИЛИМИДАЗОЛИЙ-4(5)-КАРБОКСИЛАТА – ИНТЕРМЕДИАТА НОВЫХ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ РЕПАРАТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Милевская А.С., Литасова Е.В.
Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Актуальность. В настоящее время актуальным остается поиск соединений, способных стимулировать процессы восстановления тканей после повреждений, с возможностью применения для лечения ожогов, ран и язв. К таким соединениям может относится метиламид 1,3-диметилимидазолий-4(5)-карбоновой кислоты благодаря наличию кольца имидазолия и метиламидной группы. Цель данной работы – синтез 1,3-диметилимидазолий-4(5)-карбоксилата, промежуточного продукта синтеза метиламида 1,3-диметилимидазол-4(5)-карбоновой кислоты.

Методы. 1,3-диметилимидазолий-4(5)-карбоксилат был синтезирован с использованием методов тонкого органического синтеза из 1-метилимидазола и диметилкарбоната в автоклаве в отсутствие растворителя (Патент № 19836477 A1 Германия 1998). Вещество охарактеризовано при помощи тонкослойной хроматографии и высокоэффективной жидкостной хроматографии, ЯМР-спектроскопии, УФ-спектроскопии и масс-спектрометрии методом положительной ионизации элекроспреем.

Результаты и обсуждение. В результате работы был проведен ряд экспериментов и показано, что наибольшее влияние на выход реакции оказывает температура и время выдержки. Наибольшего выхода удалось добиться при проведении реакции в течение 24 часов при температуре 130°C. Соотношение исходных реагентов значительного влияния не оказывало, при этом не удалось добиться полного вступления в реакцию 1-метилимидазола. Было доказано образование смеси 2- и 4(5)-изомеров и подобран эффективный способ их разделения. Оптимальным элюентом для разделения изомеров при помощи колоночной хроматографии оказался метанол, в котором разница факторов удерживания наибольшая. Rf 1,3-диметилимидазолий-4(5)-карбоксилата и 1,3-диметилимидазолий-2-карбоксилата соответственно: Rf = 0,11 и Rf = 0,26.

Выводы. Таким образом, были подобраны оптимальные условия для получения 1,3-диметилимидазолий-4(5)-карбоксилата в лабораторных условиях на этапах синтеза и очистки продукта.

* * *

ИНТЕГРАТИВНАЯ ОЦЕНКА МОТОРНЫХ И ЭМОЦИОНАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ В ТРАНСЛЯЦИОННОЙ МОДЕЛИ DAT-НОКАУТА У КРЫС

Мирская К.Л.[1], Русановский В.В.[1], Косякова Г.П.[1,2], Соколова Д.П.[1], Суров Д.В.[2]

[1]Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, [2]Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Дофаминовая система играет ключевую роль в регуляции двигательной активности и эмоционального поведения. Использование DAT-нокаутных крыс позволяет моделировать и изучать нарушения в дофаминовой системе на фундаментальном уровне.

Цель. Оценка моторных и эмоциональных нарушений, а также особенностей поискового поведения у DAT-нокаутных крыс в лабиринте с вероятностным подкреплением.

Материалы и методы. Эксперимент проведен на трех генетических линиях крыс: дикий тип (контроль), DAT гетерозиготные и DAT нокаутные (полное отсутствие переносчика дофамина). Животных последовательно помещали в трехрукавный лабиринт на 7 минут. На первом этапе во всех коридорах гарантированно присутствовала пища (100% подкрепление). На втором этапе условия изменяли: в первом коридоре сохранялась 100% вероятность получения еды, во втором вероятность подкрепления составляла 50%, в третьем — 33,3%. Оценивалась двигательная активность и выбор рукава животными.

Результаты. Наилучшие адаптивные способности и стратегию поиска продемонстрировали крысы дикого типа: они быстро перестраивали поведение при смене режима подкрепления, предпочитая оптимальные рукава. У DAT-гетерозиготных животных наблюдались умеренные отклонения в поведении. Наихудшие результаты зафиксированы у DAT-нокаутных крыс: отсутствие транспортера дофамина приводило к хаотичной гиперактивности, стереотипным движениям и неспособности адекватно оценивать изменение вероятности получения награды, что свидетельствует о нарушениях в моторной и эмоциональной сферах.

Выводы. Дефицит транспортера дофамина у DAT-нокаутных крыс вызывает выраженные моторные и эмоциональные расстройства, а также нарушает процессы принятия решений в условиях неопределенности. Полученные данные подтверждают ключевую роль дофаминовой системы в адаптивном поведении и обосновывают использование данной модели для изучения дофамин-зависимых нарушений.

Ключевые слова: *дофаминовый транспортер (DAT), нокаутные крысы, поведенческие нарушения, принятие решений, мотивация, вероятностное подкрепление.*

Список литературы:

1. *Mariano S., Pardo M., Buccheri C., et al. Own or dam's genotype? Classical colony breeding may bias spontaneous and stress-challenged activity in DAT-mutant rats. Developmental Psychobiology. 2020;62(4):505–518. doi: 10.1002/dev.21927*
2. *Apryatin S.A., Shipelin V.A., Trusov N.V., et al. Antioxidant system alterations and physiological characteristics of neonatal and juvenile DAT-KO rats. Journal of Neuroscience Research. 2023;101(10):1589–1603. doi: 10.1002/jnr.25218*

3. *Adinolfi A., Zelli S., Leo D., et al. Behavioral characterization of DAT-KO rats and evidence of asocial-like phenotypes in DAT-HET rats: The potential involvement of norepinephrine system. Behavioural Brain Research. 2019;359:516–527. doi: 10.1016/j.bbr.2018.11.028*

* * *

ВЛИЯНИЕ КИССПЕПТИНОВ НА РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ У ХРОНИЧЕСКИ АЛКОГОЛИЗИРОВАННЫХ САМЦОВ КРЫС

Мосолова С.Н., Костина М.И., Хохлов П.П., Гольц В.А., Бычков Е.Р., Лебедев А.А., Байрамов А.А., Шабанов П.Д.

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Актуальность. Хроническая алкогольная интоксикация наряду с общим поражением нервной системы и внутренних органов приводит к расстройству полового поведения и угнетению репродуктивной функции у человека, которая характеризуется гормональным дисбалансом, нарушением сперматогенеза у мужчин и снижением способности к зачатию у женщин. В последнее время в лечение заболеваний репродуктивной сферы предложено использование препаратов на основе пептидов кисспептиновой группы. Предполагается, что кисспептины играют существенную роль в поддержании нормальной половой функции при различных патологических состояниях.

Цель. Изучение влияния кисспептина–10 на половое поведение и уровень половых гормонов в крови у хронически алкоголизированных самцов крыс.

Материалы и методы. Исследования выполнены на крысах самцах линии Вистар с полупринудительной алкоголизацией 15% раствором этанола в течение 6 мес. При исследовании полового поведения у крыс самцов оценивали латентное время подхода к самке и число садок на самку в стадии эструса. Уровень тестостерона в сыворотке крови определяли методом твердофазного конкурентного иммуноферментного анализа.

Результаты и обсуждение. При оценке влияния хронической алкоголизации на половое поведение было установлено увеличение латентного времени подхода самцов к самке в 1,3 раза по сравнению с крысами контрольной группы, что свидетельствует об угнетении половой мотивации у алкоголизированных животных. Курсовое интраназальное введение кисспептина–10 нормализовало половое поведение: у крыс отмечалось снижение латентного времени подхода самцов к самке и увеличение числа садок на самку. Уровень тестостерона в сыворотке крови достоверно снижался на 27% у алкоголизированных крыс. Курсовое введение кисспептина-10 в течение пяти дней нормализовало концентрацию тестостерона в крови.

Вывод. В работе показано, что хроническая алкогольная интоксикация вызывает нарушение полового поведения у крыс самцов, в основном проявляющееся снижением мотивационного компонента в поведении животных. Курсовое введение кисспепина-10 нормализует указанный поведенческий дефицит, а также увеличивает уровень тестостерона в крови крыс, подвергшихся длительной алкоголизации. Полученные данные свидетельствует о возможности использования кисспептинов для восстановления репродуктивной функции, нарушенной вследствие хронической алкогольной интоксикации.

* * *

КОРРЕКЦИЯ КОМПУЛЬСИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ У КРЫС С ПОМОЩЬЮ АНТАГОНИСТА OX1R-РЕЦЕПТОРОВ ОРЕКСИНА В МОДЕЛИ ВИТАЛЬНОГО СТРЕССА

Надбитова Н.Д.[1], Шамаева С.А.[1], Садыкова Д.Р.[1,2], Сергеева А.Д.[1,2], Орлова Э.Б.[1,2], Некрасов М.С.[1,2], Пюрвеев С.С.[1,2], Лебедев А.А.[1], Шабанов П.Д.[1]

[1]Институт экспериментальной медицины,
[2]Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург

Актуальность. Обсессивно-компульсивное расстройство (ОКР) занимает специфическое положение в структуре тревожных патологий. Данное состояние характеризуется как тревожная дезорганизация, проявляющаяся повторяющимися навязчивыми идеями (обсессиями), приводящими к реализации стереотипных действий (компульсий), выполняющих функцию снижения уровня эмоционального напряжения. В экспериментальной фармакологии базовой методикой для моделирования и оценки ОКР-подобных состояний у грызунов выступает тест закапывания шариков (Marble burying test). Кроме того, компульсивный компонент является ключевым звеном паттерна аддиктивных расстройств, формируя нейробиологический базис химических (алкогольная, наркотическая) и нехимических (включая гемблинг) форм зависимостей.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 76 половозрелых крысах-самцах линии Wistar (массой 160–180 г). Оценивали влияние селективного антагониста OX1R-рецепторов орексина А на динамику компульсивности и уровень тревожности у животных, подвергнутых острому витальному стрессу. Оценку поведенческого статуса проводили в батарее тестов: закапывание шариков, приподнятый крестообразный лабиринт, открытое поле и тест социально-поведенческого взаимодействия резидент–интрудер. Психотравмирующее воздействие моделировали путем экспозиции группы животных в террариуме с тигровым питоном, где крысы становились свидетелями гибели сородича от нападения хищника. Антагонист SB-408124 вводили интраназально в дозе 1 мкг/мкл по 20 мклна животное (по 10 мкл в каждый носовой ход) ежедневным 7-дневным курсом после перенесенной психотравмы.

Результаты и обсуждение. В отсроченном периоде (на 7–10-е сутки) после витального стрессирования у животных формировался сочетанный паттерн поведенческих нарушений, включавший стойкую гипертревожность, возрастание числа закопанных шариков и угнетение социальной коммуникации, что квалифицировалось как проявление посттравматического стрессового расстройства (ПТСР). Курсовое интраназальное применение антагониста OX1R-рецепторов SB-408124 нивелировало последствия психотравмы, вызывая анксиолитический эффект, восстанавливая показатели коммуникативной активности и снижая уровень компульсивного поведения до нормативных значений. Полученные результаты свидетельствуют о ключевой роли орексинергической системы в патогенетических механизмах ответа на тяжелый психоэмоциональный стресс.

Вывод. Таргетирование OX1R-рецепторов орексина А с помощью специфических антагонистов представляет собой перспективную стратегию фармакотерапии ОКР-подобных состояний, коморбидных с ПТСР. Применение интраназального способа доставки в клинической практике позволит оптимизировать дозовый режим за счет снижения действующей дозы и минимизации потенциальной системной токсичности.

* * *

ЦЕНТРАЛЬНЫЙ И ПЕРИФЕРИЧЕСКИЙ КОМПОНЕНТЫ ЭНДОГЕННОГО АЛЛОПРЕГНАНОЛОНОВОГО ОТВЕТА У КРЫС ПОСЛЕ ОСТРОГО ПСИХОТРАВМИРУЮЩЕГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Некрасов М.С.[1,2], Лебедев А.А.[1], Лебедев В.А.[1], Бычков Е.Р.[1], Шабанов П.Д.[1], Деданишвили Н.С.[1,2], Надбитова Н.Д.[1], Балаганский И.А.[1], Глушаков Р.И.[1,3]

[1]Институт экспериментальной медицины,
[2]Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет,
[3]Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова,
Санкт-Петербург

Острая психотравма бьёт по многим системам организма. Нейростероидный обмен - одна из них, и до недавнего времени ей уделяли незаслуженно мало внимания. Аллопрегнанолон в ряду нейроактивных стероидов стоит особняком. Вещество это образуется из прогестерона, работает как аллостерический модулятор GABAa рецепторов и при стрессе сдерживает перевозбуждение нейронов. Проблема, однако, в другом: синтез идёт и на периферии, и в самом мозге. Кровь, стало быть, отражает лишь часть картины. Насколько сывороточные цифры коррелируют с тканевыми после однократной психотравмы - данных крайне мало. И пока нет такого сопоставления, трактовать показатели крови как маркер мозгового нейростероидного статуса рискованно. Нужна модель, в которой оба пула оцениваются одновременно. Целью исследования являлось изучить центральный и периферический компоненты эндогенного аллопрегнанолонового ответа у крыс после острого психотравмирующего воздействия.

Эксперимент ставили на 44 взрослых самцах Wistar (250–300 г), по 22 животных на группу. Моделировали психотравму предъявлением хищника. Подопытную крысу помещали в террариум с тигровым питоном на один час; за это время змея убивала другую крысу, и животное наблюдало гибель сородича. Контроль сидел в обычной клетке. Через 24 часа проводили забор материала: кровь из хвостовой вены (после декапитации - из туловища), затем на льду выделяли нужные отделы мозга. Уровень аллопрегнанолона меряли ИФА-набором CEB963Ge (Cloud-Clone Corp., США). Данные обрабатывали в GraphPad Prism, распределение проверяли Шапиро–Уилком, сравнение групп - U-тестом Манна–Уитни. Цифры в тексте - медианы. Порог значимости $p < 0,05$.

Через 24 часа после воздействия сыворотка опытных животных содержала аллопрегнанолона почти вдвое больше, чем у контрольных: 0,34 против 0,18 нмоль/л ($p = 0,0006$).Мозговые структуры ответили сходно по направленности, но не по силе. Префронтальная кора дала рост с 0,60 до 1,97 нг/г ($p = 0,0002$). Миндалевидное тело - с 0,38 до 1,63 нг/г ($p = 0,0022$), то есть увеличение более чем в четыре раза. Гипоталамус отреагировал слабее всего: 3,53 нг/г в контроле против 6,45 нг/г в опыте ($p = 0,0022$), рост меньше чем в два раза. Стоит обратить внимание ещё на одно обстоятельство. У интактных крыс гипоталамус исходно содержит аллопрегнанолона заметно больше, чем кора или миндалина. Не исключено, что именно высокий базальный уровень отчасти гасит его реакцию на стресс - фон, судя по всему, сглаживает динамику. Так или иначе, все три структуры дали статистически значимый подъём, как и сыворотка.

Полученные результаты указывают на то, что острое психотравмирующее воздействие запускает у крыс одновременный подъём аллопрегнанолона и в крови, и в мозге. Иными словами, эндогенный аллопрегнанолоновый ответ складывается как минимум из двух составляющих - периферической и центральной. Центральная, в свою очередь, неоднородна: кора и миндалина отвечают резче, чем гипоталамус.

* * *

АМРА-БЛОКАТОРЫ СНИЖАЮТ КОМПУЛЬСИВНОЕ ПЕРЕЕДАНИЕ У КРЫС С ПТСР

Нетеса М.А., Лебедев А.А., Потапкин А.М., Анисимов Д.Е., Бычков Е.Р., Лебедев В.А., Шабанов П.Д.

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Актуальность. Известно, что некоторые продукты питания могут вызывать пищевую зависимость (ПЗ), что приводит к серьезным физиологическим и социальным проблемам. При этом, как и в случае с другими формами зависимостей, посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР) часто сопутствует ПЗ и усугубляет ее течение. Соответственно, важно исследовать эффективность потенциальных лекарственных средств для терапии ПЗ в условиях ПТСР. Антагонисты АМРА рецепторов являются перспективными веществами в лечении зависимостей. Кроме того, было показано что АМРА-блокаторы эффективно снижают симптомы ПЗ отдельно и в сочетании с умеренным повторяющимся стрессом, но их действие в условиях ПТСР до настоящего момента не было исследовано.

Материалы и методы. В работе использовано 14 самцов крыс Вистар. Метод компульсивного переедания высококалорийной пищи (КПВП) - шоколадное лакомство (шоколадная паста Nutella, измельченный корм для крыс и вода в соотношении 52:33:15) выдается на 75 минут (на 15 минут ставится у клетки для ощущения запаха шоколада, 60 минут - в кормушке) 3 раза в неделю. Описанный метод требует предварительного обучения в течение 4 недель. В первую неделю животные получают лакомство в группах по 5-7 особей, а затем - индивидуально. ПТСР формировалось вследствие гибели сородича после взаимодействия с тигровым питоном. Для формирования ПТСР крыс помещают в террариум со змеей. После того, как змея хватает одного из грызунов, остальные отделяются от хищника прозрачной перегородкой и наблюдают за гибелью сородича в течение 40 минут. Действие ПТСР на поведение крыс в КПВП оценивалось спустя 14 дней. Использованные вещества - ИЭМ-1460 (3 мг/кг), ИЭМ-2131 (1 мг/кг) вводили внутрибрюшинно. Статистическую значимость оценивали при помощи дисперсионного анализа ANOVA с последующим апостериорным тестом Даннета.

Результаты и обсуждение. ПТСР достоверно увеличивал потребление шоколадного лакомства с 3,3 ± 0,2 до 5,0 ± 0,3 г ($p < 0,001$). Оба антагониста снижали КПВП до показателей, предшествовавших травме: 3,7 ± 0,4 для ИЭМ-1460 ($p = 0,026$) и 3,8 ± 0,4 для ИЭМ-2131 ($p = 0,046$). Достоверных различий в эффективности препаратов в настоящей работе выявлено не было.

Выводы. Таким образом, было показано, что антагонисты АМРА рецепторов сохраняют свою эффективность в снижении компульсивного переедания высококалорийной пищи даже в условиях ПТСР, в связи с чем представляются перспективными молекулами для терапии пищевой зависимости.

* * *

ВЛИЯНИЕ АМБРОКСОЛА НА ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ ЛИЗОСОМНЫХ ГИДРОЛАЗ НА ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНАХ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ИПСК ПАЦИЕНТА С GBA1-АССОЦИИРОВАННОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА

Николаев М.А.[1], Григорьева Е.В.[2], Байдакова Г.В.[3], Павлова С.В.[2], Захарова Е.Ю.[3], Копытова А.Э.[1], Пчелина С.Н.[1]

[1]Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург,

[2]Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск,

[3]Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова, Москва

Актуальность. Амброксол – муколитический препарат, ранее показавший шаперонную активность в отношении белка глюкоцереброзидаза (GCase), на сегодняшний день рассматривается как перспективный нейропротекторный препарат для GBA1-ассоциированных заболеваний (болезнь Паркинсона (БП) и болезнь Гоше), восстанавливающий нативную конформацию GCase и способствующий ее транспорту в лизосомы. Предполагается, что действие амброксола не ограничивается только ферментом GCase и может быть расширено на другие лизосомные ферменты.

Материалы и методы. Нами проведена оценка влияния амброксола на активность лизосомных гидролаз, дефицит которых приводит к развитию наиболее распространенных лизосомных болезней накопления (ЛБН): GCase (болезнь Гоше), альфа-галактозидазы (GLA) (болезнь Фабри), альфа-глюкозидазы (GAA) (болезнь Помпе), галактоцереброзидазы (GALC) (болезнь Краббе), сфингомиелиназы (ASM) (болезнь Ниманна-Пика A/B), альфа-идуронидазы (IDUA) (мукополисахаридоз I типа) и уровень их субстратов на дофаминергических нейронах, полученных из ИПСК пациента с GBA1-БП и лиц контрольной группы методом ВЭЖХ-МС/МС.

Результаты и обсуждение. Амброксол (50 мкМ, 21 день) приводил к увеличению ферментативной активности GALC в 1.17-раз ($p<0.0001$), GAA в 1.06-раза ($p=0.028$), GLA в 1.17-раз ($p<0.0001$), GCase в 1.7-раз ($p<0.0001$) и ASM в 1.2-раз ($p<0.0001$) в дофаминергических нейронах, полученных из ИПСК пациента с GBA1-БП. Аналогичные результаты по влиянию амброксола были получены и на клетках, полученных от лиц контрольной группы: амброксол увеличивал активность GALC в 1.12-раз ($p=0.044$), GAA в 1.1-раза ($p<0.0001$), GLA в 1.3-раз ($p<0.0001$), GCase в 1.4-раз ($p<0.0001$), ASM в 1.05-раз ($p=0.012$), IDUA в 1.14-раз ($p=0.003$).

Выводы. На дофаминергических нейронах, полученных из ИПСК пациента с GBA1-БП и лиц контрольной группы, нами показано, что амброксол способен модулировать активность не только GCase, но и других лизосомных гидролаз. В качестве

основного механизма действия рассматривается его влияние на процесс аутофагии и улучшение функционирования лизосом в целом. Амброксол может рассматриваться как универсальный препарат для модуляции лизосомных гидролаз в качестве адъювантной терапии ЛБН.

* * *

ВЫДЕЛЕНИЕ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ, ПРОДУЦИРУЮЩИХ БЕТА-ЛАКТАМАЗЫ РАСШИРЕННОГО СПЕКТРА, ИЗ ПРОБ МОЧИ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ

Новгородцева А.К., Кафтырева Л.А.
НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург

Актуальность. Мониторинг антибиотикорезистентности энтеробактерий имеет большое значение в условиях формирования множественной устойчивости микроорганизмов к антимикробным препаратам. Источниками БЛРС-продуцирующих штаммов для человека могут быть домашние питомцы.

Цель. Изучить распространенность БЛРС-продуцирующих уропатогенных штаммов энтеробактерий, выделенных от домашних животных в Санкт-Петербурге.

Материалы и методы. Объектами исследования послужили уринокультуры, выделенные от домашних животных (кошек и собак) с клиническими признаками патологий урогенитального тракта в Санкт-Петербурге (n=326). Отбор материала проводился с соблюдением правил асептики методом катетеризации или цистоцентеза. Бактериологическим методом проводили посев мочи на плотные питательные среды. Идентификацию колоний осуществляли методом MALDI-TOF MS и биохимическими тестами. Для детекции продукции бета-лактамаз расширенного спектра применяли диско-диффузионный метод. Наличие бета-лактамаз устанавливали методом двойных дисков.

Результаты и обсуждение. Провели бактериологическое исследование 326 проб мочи, полученных от кошек и собак, страдающих заболеваниями мочевыводящих путей. Все животные принадлежали разным владельцам, пробы поступали из разных районов Санкт-Петербурга. Из 208 положительных по бактериальным инфекциям проб (69,9%) в 51,6% случаев (n=168) были выделены грамотрицательные бактерии, ещё 18,3% пришлось на грамположительные (Staphylococcus spp, Streptococcus spp.). Среди грамотрицательных микроорганизмов, вызывающих инфекции мочевыводящих путей у животных, наиболее часто регистрировали E. coli (37,4%). Также выделяли Proteus mirabilis, Enterobacter cloacae, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa и др. Обнаружили, что пять штаммов E.coli и один штамм Kl. pneumoniae, выделенные от собак, а также один штамм E.coli от кошки продуцировали бета-лактамазы расширенного спектра.

Вывод. Домашние животные, имеющие заболевания мочеполовой системы, могут являться дополнительным источником и резервуаром БЛРС-продуцирующих энтеробактерий – возбудителей инфекционных заболеваний человека. Необходимо исключить бесконтрольное применение антибиотиков при лечении животных. Проблема появления полирезистентных бактерий среди кошек и собак вызывает обеспокоенность и создаёт предпосылки для разработки нормативной документации по рациональной антимикробной терапии в ветеринарной практике.

* * *

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ СЕАНСА КОЛЕБАТЕЛЬНОЙ ПОСТУРАЛЬНОЙ НАГРУЗКИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ

Новикова Т.В., Анисимов А.А., Куропатенко М.В.
Институт экспериментальной медицины,
Санкт-Петербург

Недостаток регулярного выполнения физических упражнений вызывает каскад различных нарушений в организме. Кроме того, встречаются условия и состояния, при которых человек не может осуществлять двигательную активность. В качестве её альтернативы может рассматриваться современный неинвазивный метод колебательных пассивных динамических постуральных нагрузок (КПДП–нагрузок) для реабилитации в условиях сниженной физической активности. При этом вначале требуется оценка состояния пациента для допуска к реабилитационным процедурам, а по их завершению – для дальнейшей корректировки вида и интенсивности КПДП-воздействий.

Цель. Выявить диагностическую значимость однократного сеанса КПДП–нагрузки для оценки функционального состояния.

Материалы и методы. В исследовании приняло участие 15 человек в возрасте от 21 до 29 лет. Все испытуемые подписали информированное согласие, были осмотрены врачом, у них отсутствовали жалобы на состояние здоровья и обострение хронических заболеваний. Диагностический сеанс включал 5-минутные записи электрокардиограммы в положении лежа до и после 10-минутной КПДП–нагрузки. Значения показателей приведены в формате до/после.

Результаты. По результатам проведенных сеансов принимались решения о допуске испытуемых к курсу КПДП–терапии. Были выявлены лица с нарушением регуляции симпатического и парасимпатического отделов вегетативной нервной системы (ВНС), при этом их реакции на КПДП–нагрузки различались.

В случаях повышенной симпатической активации после КПДП–нагрузки усиливалась вагусная регуляция (первый вид реакции). О нормализации симпато-вагусного баланса с умеренным преобладанием парасимпатического звена свидетельствуют снижение индекса вегетативного равновесия (ИВР=181 / 33 у.е.), повышение SDNN=51 / 97 мс и RMSSD=62 / 128 мс. Такой результат сеанса свидетельствует о высоком потенциале курса КПДП–терапии как метода для восстановления баланса ВНС.

У людей с симпатической гиперактивацией и ригидным ритмом наблюдалась иная реакция после КПДП–нагрузки (второй вид реакции). Несмотря на снижение симпатического влияния (ИВР=309 / 146 у.е.) и индекса напряженности (ИН=183 /86 у.е.) разнонаправленная динамика SDNN=26 / 22 мс и RMSSD=10 / 26 мс свидетельствует о сохраняющейся вегетативной дисфункции. Это является признаком нестабильности и некоторой хаотичности регуляторных процессов на фоне стойкой ригидности сердечного ритма (pNN50%=0,8% / 0,6%). В подобных случаях при проведении курса КПДП–терапии необходимо более детально следить за динамикой показателей вариабельности сердечного ритма с возможной персонализацией нагрузки.

Третий вид реакции после КПДП–нагрузки наблюдался у лиц с исходным умеренным преобладанием парасимпатического звена ВНС: pNN50%=52% / 63%,

ИВР=60 / 80 у.е., ИН=42 /38 у.е., SDNN=104 / 64 мс, RMSSD=95 / 87 мс. В этом случае после КПДП–нагрузки происходит снижение вагусного влияния с умеренным усилением симпатического звена, что свидетельствует о балансировке деятельности ВНС и является показанием к полному курсу КПДП–терапии.

Четвертый тип реакции наблюдался в случае исходной гиперактивации парасимпатического звена ВНС: ИВР=23 / 25 у.е., ИН=10 /11 у.е., SDNN=168 / 169 мс, RMSSD=127 / 147 мс. Неадекватная динамика показателей свидетельствует о дезадаптационных процессах ВНС, что является прямым противопоказанием к проведению курса КПДП–терапии. В данном случае, по результатам сеанса, испытуемому было предложено обратиться к кардиологу и неврологу для обследования и получения профессиональной помощи.

Выводы. Продемонстрирована информативность диагностического сеанса КПДП–нагрузки в качестве комплексного теста для оценки функционального состояния человека. Результаты теста могут быть положены в основу определения показаний / противопоказаний к назначению курса КПДП–терапии.

✷ ✷ ✷

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ФЕНОТИПЫ РЕЗИДЕНТНЫХ МАКРОФАГОВ ЦНС В ПЕРВИЧНЫХ КУЛЬТУРАХ НЕЙРОНОВ ЛЕВОЙ И ПРАВОЙ КОРЫ НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫС: ПРИЖИЗНЕННАЯ МИКРОСКОПИЯ

Новоселова Н.Ю.

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург

Микроглия — резидентные макрофаги ЦНС, огромный интерес к которым в последние десятилетия обусловлен тем, что они играют одну из ключевых ролей в патогенезе различных заболеваний и рассматриваются в качестве перспективных терапевтических мишеней. Согласно современным представлениям, эти клетки происходят из эритромиелоидных предшественников желточного мешка, заселяют ЦНС на ранних этапах эмбриогенеза (до формирования гематоэнцефалического барьера) и представляют собой доминирующую популяцию резидентных макрофагов мозга.

В ходе визуального мониторинга интактных культур нейронов, полученных путем ферментативно-механической диссоциации ткани коры обоих полушарий в динамике культивирования было выявлено присутствие макрофагов шаровидной формы с мелкозернистой цитоплазмой, при этом на более поздних сроках после посева (на 9-10-е и последующие сутки) у них становились более заметными характерные отростки — филоподии. Однако над поверхностью или в верхних слоях отдельных адгезивных нейросфер, спонтанно сформированных в нейрональных культурах коры обоих полушарий, наблюдалось присутствие макрофагов, имеющих темно-коричневую (бурую) окраску и плотно заполненную желтыми глыбками цитоплазму, что может указывать на нагруженность данных клеток веществами липофусциновой природы. Полученные данные согласуются с накапливающимися в последнее время результатами *in vivo* исследований, свидетельствующими о том, что накопление липофусцина, рассматриваемого ранее исключительно как пигмент старения, может происходить также в клетках молодого организма (в первую очередь в микроглии) и носить обратимый характер. При этом темно-бурая окраска ассоциированных с нейросферами макрофагов может указывать на высокую фагоцитарную активность фенотипически трансформированных клеток микроглии.

* * *

СОВМЕСТНОЕ ДЕЙСТВИЕ РАЗЛИЧНЫХ КАТИОННЫХ ПОЛИПЕПТИДОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ПРОТИВ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ

Оборин Н.Н.[1], Берлов М.Н.[1], Кренев И.А.[1], Ильюшонок С.К.[2], Бабаков В.Н.[2], Шанин С.Н.[1]

[1]Институт экспериментальной медицины,
[2]НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека,
Санкт-Петербург

Исследования в области возможного применения пептидных препаратов требуют расширения знаний о спектре эндогенных полипептидов, которые могут выполнять защитные функции. В данном контексте следует обращать внимание на циркулирующие в крови белковые молекулы, исходно включенные в иммунную систему, или образующиеся в результате реакции организма на инфекционные угрозы. Несмотря на то, что многие индивидуальные белковые молекулы идентифицированы, потенциал могут представлять и фрагменты соединений, канонично не выполняющие защитных функций. В этом ключе следует рассматривать не только изолированные элементы системы, но и возможную работу в кооперации при противостоянии патогенам.

Неоднократно подчеркивается перспектива использования веществ белковой природы для разработки антибактериальных средств; привлекает низкая токсичность, меньший риск резистентности по сравнению с конвенциональными антибиотиками. В то же время, изучение лекарств на основе пептидов подразумевает первоочередно рассмотрение собственных молекул организма в системе их взаимодействия друг с другом, в крови и при репарации повреждений. Мы предлагаем сосредоточиться на комбинациях полипептидов крови после активации каскада свёртывания. Принято считать, что положительно заряженные пептиды с большей вероятностью проявляют антимикробную активность, поэтому поле исследование сужено до данной группы.

С учётом вклада грамположительных бактерий в различные инфекции, целью является определение роли катионных полипептидов сыворотки крови человека в деле защиты организма именно против этой группы бактерий.

Сыворотка крови была получена от нескольких доноров, добровольно изъявивших желание предоставить биологический материал. Положительно заряженные соединения из сыворотки были отобраны в результате проведения катионообменной хроматографии на карбоксиметилцеллюлозе. Полученную катионную фракцию сконцентрировали методом твердофазной экстракции на картридже С-18 с элюцией 50% ацетонитрила. Смесь полипептидов высушили и перерастворили в деионизованной воде, в дальнейшем фракционировали методом ОФ-ВЭЖХ для разделения на индивидуальные компоненты; часть исходного материала использовали для оценки антимикробной активности. Для проверки бактерицидности использовали метод наложения полиакриламидного геля после электрофоретического разделения на агарозный слой, а также метод инкубации в планшете с высевом и подсчётом колоний. Для идентификации использовали метод масс-спектрометрии триптических фрагментов.

В положительно заряженном компоненте сыворотки крови человека в мажорном количестве представлены лизоцим, фрагменты С3а системы комплемента, а также тромбоцитарный хемокин CXCL4. Исходно сыворотка крови не проявляет активности в условиях эксперимента против *Staphylococcus aureus* ATCC 25923*, Micrococcus luteus* A270*, Bacillus cereus* ATCC 10702*,* умеренно активна против *Bacillus subtilis* 534 и *Listeria monocytogenes* EGD. После изъятия катионной фракции сыворотка крови против указанных бактерий не активна. В то же время, сама положительно заряженная группа проявляет активность против указанных бактерий и в том числе в присутствии 0,1 М NaCl. Комбинации идентифицированных компонентов демонстрируют определённый синергизм, который следует уточнить при дальнейших экспериментах с препаратами высокой чистоты.

Положительно заряженные полипептиды сыворотки крови полностью обуславливают её бактерицидную активность против грамположительных бактерий, по крайне мере на указанных штаммах. Основную роль играет лизоцим, имеющий ферментативную активность, однако во взаимодействии с другими полипептидами, с предположительно мембранолитическим механизмом действия, эффективность и самого лизоцима, и других компонентов значительно возрастает. Мы предполагаем, что плодотворным будет изучение сочетания антимикробных соединений с разными механизмами действия.

✶ ✶ ✶

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ РИСКИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ И АНТРАЦИКЛИНОВОЙ КАРДИОТОКСИЧНОСТИ

Орлова Н.В., Ильенко Л.И., Тиганова О.А., Карселадзе Н.Д., Бурак М.В.

Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва

Актуальность. Антрациклины — одни из самых часто используемых препаратов для лечения злокачественных новообразований у детей, в т.ч. острых лейкозов. Несмотря на их эффективность в противоопухолевой терапии, их применение связано с развитием нежелательных явлений со стороны сердечно-сосудистой системы. Чаще всего из осложнений встречается кардиомиопатия, которая в дальнейшем приводит к развитию сердечной недостаточности. По данным ученых осложнения со стороны сердечно-сосудистой системы, связанные с приемом антрациклина, встречаются у каждого десятого ребёнка, а у взрослых, перенесших в детстве злокачественное новообразование, включая острый лейкоз, и пролеченных антрациклином риск сердечно-сосудистых нарушений в 5–10 раз чаще по сравнению с общей популяцией. В тоже время имеет место вариативная предрасположенность к антрациклиновой кардиотоксичности. Одни пациенты переносят высокие дозы препарата без нежелательных явлений, в то время как у других развивается антрациклиновая кардиотоксичность даже при низких дозах [1]. Исследования выявили взаимосвязь риска развития антрациклиновой кардиотоксичности с генетическими полиморфизмами ABCB1-rs1128503, ABCB1-rs1045642, ABCC1-rs4148350, CBR3-rs8133052, SLC22A16-rs714368 и SLC22A16-rs6907567), NQO2-in/del [2]. В других исследованиях также была выявлена ассоциация с предрасполагаемым и защитным вариантами в генах ABCC1 rs3743527, rs246221, rs3743527, ABCC2 rs8187710, CBR3 rs1056892, SLC28A3 rs78537585, UGT1A6 rs17863783, SULT2B1 rs10426377 [3]. Риск кардиотоксических эффектов, в первую очередь, рассматривается с генами биотрансформации лекарств, связанных с транспортом и метаболизмом антрациклина. В тоже время отмечается, что генетическая предрасположенность к развитию сердечно-сосудистых заболеваний повышает вероятность развития антрациклиновой кардиотоксичности [4].

Цель. Определение полиморфизмов генов, ассоциированных с риском развития сердечно-сосудистых заболеваний.

Материалы и методы. В исследовании участвовали 2 группы; 1 группа - 80 пациентов, старше 18 лет с подтвержденным диагнозом ишемической болезни сердца с атеросклеротическим поражением коронарных артерий на коронароангиографии; 2 группа - 50 человек без сердечно-сосудистых заболеваний. Определение полиморфизмов генов APOA -75 G/A, APOE PI-22M/22Q, ACE I/D, IRS1 Gly972Arg, IL 10-627 A/C и TNF-α -308 TNF1/TNF2 проводили методом полимеразной цепной реакции, было использовано 6 пар синтезированных праймеров, специфичных для каждого полиморфного варианта. Проведена статистическая обработка полученных результатов исследования.

Результаты и обсуждение. Была выявлена взаимосвязь ишемической болезни сердца и атеросклеротическим поражением коронарных артерий ассоциированы с по-

лиморфизмом A/A гена APOA1, полиморфизмом D/D гена ACE, полиморфизмом TNF2/ TNF2 гена TNF-a, аллелей A гена IL-10. Ожирение и сахарный диабет 2 типа являются факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний. Изучение полиморфизмов среди пациентов с ишемической болезнью сердца и атеросклерозом с сопутствующими ожирением и сахарным диабетом 2 типа выявило преобладание среди этой популяции полиморфизма A/A гена APOA1, полимрофизма D/D гена ACE, полиморфизма A/A гена IL-10. Установлено, что полиморфизмы Q/Q гена APOE, D/D гена ACE, Gly/Gly гена IRS1 ассоциированы с риском развития раннего инфаркта миокарда (до 50 лет). Таким образом, подтверждается генетическая предрасположенность к сердечно-сосудистым заболеваниям, связанная с генами липидного обмена, ренин-ангиотензиновой системы и воспаления. Эти три механизма являются непосредственными участниками в патогенезе атеросклеротического поражения коронарных сосудов.

В проведенном исследовании определены полиморфизмы генов APOA -75 G/A, APOE PI-22M/22Q, ACE I/D, IRS1 Gly972Arg, IL 10-627 A/C и TNF-α -308 TNF1/TNF2, ассоциированные с атеросклерозом и его осложнениями, которые могут быть генами-кандидатами антрациклиновой кардиотоксичности. В дальнейшем нами планируется продолжить молекулярно-генетические исследования на популяции взрослых, перенесших в детстве острый лимфобластный лейкоз и сопоставить наличие поздних кардиотоксических осложнений с генами APOA -75 G/A, APOE PI-22M/22Q, ACE I/D, IRS1 Gly972Arg, IL 10-627 A/C и TNF-α -308 TNF1/TNF2, для которых мы выявили ассоциацию с риском развития коронарного атеросклероза и его осложнений.

Вывод. Результаты исследования выявили увеличение риска развития сердечно-сосудистых заболеваний у носителей полиморфизмов A/A гена APOA1, D/D гена ACE, TNF2/ TNF2 гена TNF-α, аллеля A гена IL-10.

Список литературы:

1. *Leong SL, Chaiyakunapruk N, Lee SW. Candidate Gene Association Studies of Anthracycline-induced Cardiotoxicity: A Systematic Review and Meta-analysis // Sci Rep. 2017. - Vol. 7. - №1. – P. 39.*
2. *Hellmann F, Völler S, Krischke M, et al. Genetic Polymorphisms Affecting Cardiac Biomarker Concentrations in Children with Cancer: an Analysis from the "European Paediatric Oncology Off-patents Medicines Consortium" (EPOC) Trial // Eur J Drug Metab Pharmacokinet. – 2020. - Vol. 45. - № 3. – P. 413-422.*
3. *Visscher H, Ross CJ, Rassekh SR, et al. Pharmacogenomic prediction of anthracycline-induced cardiotoxicity in children // J Clin Oncol. – 2012. - Vol.30. – P. 1422-8.*
4. *Al-Otaibi TK, Weitzman B, Tahir UA, Asnani A. Genetics of Anthracycline-Associated Cardiotoxicity // Front Cardiovasc Med. – 2022. - Vol.9. – P. 867873.*

* * *

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ АНТИТЕЛО-МЕДНОГО КОНЪЮГАТА НА ОСНОВЕ ТРАСТУЗУМАБА ДЛЯ ТЕРАПИИ HER2-ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Отводникова Д.Е.[1], Чернов К.В.[1], Горностаева С.В.[1], Цымбал С.А.[1,2]
[1]Университет ИТМО,
[2]НИУ ВШЭ,
Санкт-Петербург

Актуальность. Антитело-лекарственные конъюгаты являются перспективной платформой противоопухолевой терапии, однако их эффективность может ограничиваться развитием лекарственной устойчивости, обусловленной как клетками опухолевой ниши, так и изменением экспрессии мишени, что обосновывает поиск новых цитотоксических нагрузок и альтернативных механизмов действия. В этом контексте интерес представляют ионы меди, способные при взаимодействии с физиологически-совместимыми восстановителями индуцировать образование активных форм кислорода, вызывающих повреждение клеточных компонентов (Цымбал и соавт., 2021). Сочетание данного механизма с таргетирующим потенциалом трастузумаба, специфичного к HER2, позволит воздействовать на HER2-экспрессирующие клетки и дополнить механизмы действия АЛК редокс-зависимой цитотоксичностью. Целью работы являлась разработка, характеристика и оценка активности конъюгата на основе трастузумаба и ионов меди.

Методы исследования. Синтез медного конъюгата осуществлялся в две стадии с промежуточной очисткой гель-фильтрационной хроматографией или диализом. Характеризацию выполняли методами денатурирующего полиакриламидного гель-электрофореза и атомно-эмиссионной спектроскопии. Биологическую активность оценивали с помощью МТТ-теста на клеточных культурах с различным уровнем экспрессии HER2: SK-BR-3, BT-474, MDA-MB-231, MCF-7 и HCC1954. Кроме того, проводили проточную цитофлюориметрию для анализа АФК и конкурентного связывания, а также клоногенный анализ клеточной гибели.

Результаты и обсуждение. Синтезирован стабильный конъюгат трастузумаба с медью, сохраняющий структурную целостность антитела на всех этапах синтеза и в течение продолжительного хранения, а также демонстрирующий эффективное связывание меди, подтвержденное атомно-эмиссионной спектроскопией. Конъюгат специфически связывается с HER2, проявляет выраженную цитотоксичность с IC50 в субмикромолярных и микромолярных диапазонах на на клетках SK-BR-3, BT-474 и MCF-7. Клоногенный анализ подтвердил ингибирование колониеобразования преимущественно в HER2-позитивных клетках.

Выводы. Полученный антитело-медный конъюгат эффективен в отношении HER2-положительных клеток, в том числе химиорезистентных, что обосновывает использование ионов меди в качестве цитотоксической нагрузки для АЛК нового поколения. Дальнейшие перспективы включают оптимизацию синтеза для достижения стабильного DAR, детальное изучение механизма действия и проведение доклинических испытаний.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-75-10075, https://rscf.ru/project/25-75-10075/.

ПРЕНАТАЛЬНОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ КОМПОНЕНТОВ ЭЛЕКТРОННЫХ СИГАРЕТ НА ФОРМИРОВАНИЕ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ ПЛОДА

Палаткина П.А., Апраксина Н.К.
Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург

Актуальность. Электронные средства доставки никотина (ЭСДН) широко распространены как альтернатива традиционным табачным изделиям, в том числе среди женщин репродуктивного возраста. Несмотря на представление об их относительной «безопасности», компоненты аэрозоля — никотин, ароматизаторы и продукты термического разложения могут проникать через плацентарный барьер и воздействовать на развитие нервной системы плода.

Методы исследования. Проведён критический обзор литературы за 2015–2025 гг. по данным PubMed, Scopus, MEDLINE, РИНЦ и eLibrary. Проанализированы экспериментальные исследования на животных и клеточных моделях, а также клинические и эпидемиологические исследования.

Результаты и обсуждение. Данные указывают на потенциальное токсическое воздействие компонентов ЭСДН. Никотин, проникая через плаценту, воздействует на ацетилхолиновые рецепторы и может нарушать нейрогенез, миграцию и дифференцировку нейронов, синаптическую пластичность и формирование нейронных связей. Пренатальное воздействие никотина связывают с возможными когнитивными и поведенческими нарушениями.

При нагревании пропиленгликоля и глицерина образуются токсичные альдегиды, включая формальдегид, ацетальдегид и акролеин, способные усиливать оксидативный стресс и нарушать клеточные и синаптические процессы. Ароматизаторы и другие компоненты аэрозоля могут дополнительно провоцировать воспалительные и окислительные процессы.

Экспериментальные данные связывают пренатальное воздействие аэрозолей с нарушением развития мозга, нейровоспалением, повреждением гематоэнцефалического барьера, изменением нейрональной миграции, аксоногенеза и синаптической пластичности. В отдельных исследованиях у детей отмечались изменения памяти и поведения, однако клинические данные ограничены и неоднородны.

Вывод. Экспериментальные исследования демонстрируют потенциально токсическое влияние компонентов ЭСДН на развивающуюся нервную систему плода, включая нарушения нейрогенеза, синаптической пластичности, нейровоспаление и эпигенетические изменения. Совокупность данных указывает на потенциальные риски пренатального воздействия ЭСДН и необходимость информирования беременных о возможных последствиях их использования.

* * *

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ МОДУЛЯЦИЯ РЕЦЕПТОРА СЛЕДОВЫХ АМИНОВ 5 ПРИ КОМПУЛЬСИВНОПОДОБНОМ ПОТРЕБЛЕНИИ ВЫСОКОКАЛОРИЙНОЙ ПИЩИ У КРЫС

Перова А.П.[1], Оберемок А.Ю.[2], Пюрвеев С.С.[1]
[1]Институт экспериментальной медицины,
[2]Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет,
Санкт-Петербург

Актуальность. Рецептор следовых аминов 5 (TAAR5) активируется микробным метаболитом триметиламином (TMA) и рассматривается как компонент сигнальной оси кишечник-мозг. Недавние исследования показали, что дефицит TAAR5 сопровождается изменением циркадной динамики ряда метаболических гормонов, включая GLP-1, PYY, лептин и грелин, что предполагает участие TAAR5 в регуляции энергетического гомеостаза (Mahen и соавт., 2026).

Цель. Оценить влияние фармакологической модуляции TAAR5 на устойчивое потребление высококалорийной пищи и сопоставить его с эффектом двойного агониста рецепторов GIP и GLP-1 тирзепатида.

Материалы и методы. Исследование проведено на 8 половозрелых самцах крыс Wistar. В течение приблизительно 3 месяцев животные получали высококалорийную смесь на основе шоколадно-ореховой пасты и стандартного корма 3 раза в неделю при свободном доступе к стандартному корму и воде. Перед тестированием животным в течение 20 минутпредъявляли недоступную для употребления порцию смеси, после чего предоставляли к ней доступ на 1 час. Препараты вводили интраназально в концентрации 1 мг/мл, 20 мкл.

Результаты и обсуждение. После введения растворителя потребление составляло 9,71±1,06 г. TMA снижал среднее потребление до 8,10±0,68 г. Тимберол же снижал потребление высококалорийной пищи до 5,84±0,49 г, на 39,9% относительно растворителя (p=0,031). При введении Timberol+TMA потребление составляло 7,65±0,68 г, что соответствовало снижению на 21,2%, и было промежуточным результатом между TMA и тимберолом. Тирзепатид при остром интраназальном введении снижал потребление до 5,28±0,47 г, на 45,7% .

Выводы. Таким образом, фармакологическая блокада TAAR5 сопровождалась выраженным снижением потребления высококалорийной пищи, тогда как введение TMA статистически значимого эффекта не вызывало. По величине снижения введение тимберола приближалось к эффекту тирзепатида. Эти данные согласуются с формирующимся представлением о системе TAAR5 как компоненте метаболической регуляции и дополняют данные о связи TAAR5 с динамикой GLP-1 и других гормонов энергетического обмена (Mahen и соавт., 2026). Механизм данного эффекта, включая возможное участие инкретиновых и других метаболических сигнальных путей, требует дальнейшего изучения.

* * *

ФОРМИРОВАНИЕ УСЛОВНОГО РЕФЛЕКСА В СОСТОЯНИИ УСЛОВНОГО БОДРСТВОВАНИЯ

Пестерева Н.С., Черкассова Р.Д., Сизов В.В.
Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Условный рефлекс (УР) – фундаментальное физиологическое явление, описанное И.П. Павловым. Благодаря исследованию УР было расширено понимание сигнальной деятельности мозга в вопросах возбуждения, торможения и образования временных связей. УР является основой обучения, поэтому изучение формирования УР в при различных патологиях вызывает интерес в современной науке. Целью нашего исследования являлось изучение возможности формирования условного рефлекса под уретановым наркозом. Поскольку под этим наркозом вызванные потенциалы на свет в зрительной области коры продолжают регистрироваться (Robert S. Dyer, 1987), а механизм уретана включает умеренную сенситизацию тормозных и неконкурентное ингибирование возбуждающих рецепторов.

Стереотаксическая имплантация микроэлектродов для метода быстрой сканирующей циклической вольтамерометрии (БСЦВА), с помощью которой регистрировали дофамин (ДА) онлайн, в мозг животных осуществлялась после анестезии уретаном (1.5 г/кг, внутрибрюшинно) и лидокаином (местно). На первом этапе животным предъявляли световой сигнал (3 с, 10 раз, интервал 240–360 с); реакции дофаминергической системы не регистрировалось. Затем свет сочетали с электрической стимуляцией VTA, которую подавали в конце второй секунды светового импульса. Каждые 7–10 предъявлений стимуляцию опускали для проверки формирования рефлекса. Начало стимулирующих импульсов синхронизировали с окончанием кадров сканирования БСЦВА для снижения артефактов на записи. После обучения проводили проверку сохранности и последующее угашение рефлекса: животным многократно предъявляли свет (3 с, интервал 240–360 с) без подкрепления током.

В состоянии n-REM сна под уретановым наркозом не происходит ни выработки, ни воспроизведения УР. В состоянии не n-REM сна формируется условный выброс ДА на световой стимул, изменение дыхательного ритма также закрепляется как УР реакция на свет. Данный УР закрепляется минимум на 18 часов без внешнего подкрепления. Из 20 экспериментальных животных обучились все. Поскольку у разных животных регистрирующий электрод находился на глубинах от 5.7 до 8.5 мм от поверхности черепа, ясно, что не только ядро и оболочка NA, но и DMS способны к обучению отвечать на свет выбросом ДА. Факт, что животные не обучаются и не отвечают на условный стимул во время n-REM сна сам по себе является тривиальным. Но на “спящих” под уретановым наркозом животных это было несколько неожиданно, особенно в свете формирования условного стимула в стадии REM сна, т.е. условного бодрствования.

* * *

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИННОВАЦИОННОГО ПРЕПАРАТА В СРАВНЕНИИ С НЕКОТОРЫМИ ДРУГИМИ АНТИМИКОТИКАМИ В ОТНОШЕНИИ ГРИБОВ РОДА CANDIDA

Петрачкова Е.А.[1], Афиногенова А.Г.[2]

[1]Городская поликлиника №75,
[2]НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,
Санкт-Петербург

Актуальность. Лечение кандидозной инфекции становится все более трудоемким процессом, так как патологический очаг представляет собой гетерогенную ассоциацию грибковых и бактериальных патогенов, способных к биопленкообразованию. Поэтому необходимы разработка препаратов с комплексным антигрибковым и антибактериальным эффектом действия с иными механизмами влияния на грибную клетку.

Цель. Провести сравнительный анализ эффективности воздействия некоторых антимикотических препаратов для местного применения (Мизол, Нафтифин) и новой полимерной антисептической композиции, содержащей синтетический полимер и известные антисептики с различными механизмами действия, на грибы рода Candida,их гифообразование, биопленкообразование и на некоторые бактерии, наиболее часто присутствующие в патологическом очаге.

Материал и методы. В исследовании использовали штаммы *C.albicans* (ATCC10231, ATCC90028), *C.krusei* (ATCC6258), *C.tropicalis*, *C.glabrata*, *C.parapsilosis*. Исследование воздействия противогрибковых препаратов проводили методом микроразведений в планшетах. Оценивали количественно жизнеспособность клеток дрожжей после воздействия различных концентраций антимикотических средств, зависимость скорости гибели от концентрации препаратов и времени их воздействия. Результаты интерпретировали согласно EUCAST. Учет производили по результатам высева на агар Сабуро, резазурину, прямой и окрашенной микроскопии. Оценку влияния препаратов сравнения на гифообразование проводили по высеву на агар Сабуро и прямой микроскопии, на биопленкообразование- с использованием набора флуоресцентных красителей и конфокального сканирующего микроскопа NexcopeNCF950. С помощью луночно- диффузионного метода оценивали влияние на бактерии S.aureus, E.coli, E.faecalis, S.pyogenes и S.agalactiae.

Результаты и обсуждение. Самый сильный противогрибковый эффект проявляла новая полимерная антисептическая композиция. Воздействие 100% концентрации всех тестируемых препаратов вызывало полную гибель клеток биопленки. Воздействие 10% концентраций препаратов сравнения вызывало гибель единичных дрожжевых клеток, новой композиции - гибель 70-80% дрожжевых клеток. Подтверждено наличие противобактериального эффекта у разработанного нами препарата по наличию зон задержки роста.

Вывод. Исследуемая новая полимерная антисептическая композиция обладает фунгицидным действием на псевдомицелий грибов рода *Candida* и большей биопленочной микоцидностью в малых концентрациях, чем препараты нафтифина. Выявлено

наличие комплексного противогрибкового и противобактериального эффекта у разработанного препарата в отличие от препаратов сравнения. Продолжается исследование по оценке влияния различных концентраций новой композиции на биопленкообразование с использованием люминисцентной микроскопии и наборов флуоресцентных красителей разных производителей.

* * *

РОЛЬ ИММУНОПАТОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В ФОРМИРОВАНИИ НЕСТАБИЛЬНОЙ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОЙ БЛЯШКИ

Пигаревский П.В., Мальцева С.В., Снегова В.А., Давыдова Н.Г.
Институт экспериментальной медицины,
Санкт-Петербург

Цель. Выяснение причин и механизмов дестабилизации атеросклеротической бляшки у человека. Поскольку нестабильные атеросклеротические бляшки являются причиной возникновения наиболее острых осложнений атеросклероза и ИБС, таких как инфаркт миокарда, инсульт, внезапная смерть. Механизмы развития нестабильных атеросклеротических бляшек, причины их разрыва, а также возможное участие аутоиммунных и иммуновоспалительных реакций в этом процессе остается пока неизвестным. Исследование этих поражений – одно из самых молодых и малоизученных направлений современной патологии.

Материалы и методы. Сравнительное иммуногистохимическое исследование проведено на аутопсийном материале (35 случаев, мужчины, возраст 62 ±9 лет), полученном от лиц, умерших от острой сердечно-сосудистой недостаточности атеросклеротической этиологии. Обязательным условием для отбора случаев являлось отсутствие тяжелых, сопутствующих заболеваний, способных оказывать воздействие на иммунологическую реактивность. Исследовано 90 образцов ткани аорты - сегменты из района дуги, грудного и брюшного отделов. В образцах ткани изучали внутри- и внеклеточную экспрессию интерлейкина-8, интерлейкина-6 и матриксной металлопротеиназы 1 типа, которые выявлялись с использованием высокочувствительного двухступенчатого стрептавидин-биотинового метода**.** Полученные препараты изучали в световом микроскопе «Leica» DM 2500. Микрофотографии получали с использованием цифровой фотокамеры «Leica» DFC 420 и компьютерной программы «Leica Application Suit Version 3.4.0».

Результаты. Комплексное сравнительное гистологическое и иммуногистохимическое исследование атеросклеротических поражений человека позволило установить, что за счет активного синтеза IL-8 эндотелиальными клетками в интиму артерий человека из тока крови проникают макрофаги, CD4 и Th17 – лимфоциты, усиливающие иммуновоспалительные реакции, необходимые для формирования нестабильных, прогрессирующих атеросклеротических поражений. Выявлена прямая связь между прогрессирующими атеросклеротическими поражениями и высоким содержанием в них интерлейкина-6. Поэтому экспрессия интерлейкина-6 в сосудистой стенке может служить маркером дестабилизации атеросклеротической бляшки. Иммунобиохимический анализ содержания MMP-1 в сыворотке крови пациентов с различным формами течения ишемической болезни сердца и иммуногистохимическое исследование атеросклеротических поражений аорты человека позволили установить, что один из механизмов повреждения фиброзной покрышки нестабильной бляшки может быть связан с повышением концентрации MMP-1 в периферической крови и ее высокой активностью в самом атеросклеротическом очаге. Установление данного факта создает предпосылки для использования MMP-1 в качестве маркера острой фазы нестабильного течения ишемической болезни сердца.

Выводы. Таким образом, показано участие в формировании нестабильных атеросклеротических поражений таких мощных провоспалительных факторов как интерлейкина-8, интерлейкина-6 и матриксной металлопротеиназы 1 типа, которые способствуют деструкции сосудистой стенки.

* * *

ДИЗАЙН НОВОГО РЯДА КОНКУРЕНТНЫХ АНТАГОНИСТОВ NMDA-РЕЦЕПТОРОВ

Поверинова Т.О., Брусина М.А., Литасова Е.В.
Институт экспериментальной медицины,
Санкт-Петербург

Актуальность. Патогенез хронической боли и всех нейродегенеративных заболеваний включает эксайтотоксичность – состояние, характеризующееся избытком глутамата в синаптической щели, приводящее к гиперстимуляции NMDA-рецепторов и притоку избытка ионов кальция в нейроны, что неизбежно запускает апоптоз нервных клеток. Селективные конкурентные антагонисты глутамат-связывающего сайта NMDA-рецепторов позволяют модулировать их деятельность, поэтому синтез таких лигандов рассматривается как перспективное направление в нейрофармакологии. Форсайт химической структуры новых антагонистов NMDA-рецепторов необходим для целенаправленной разработки потенциальных анальгетиков нового поколения и лекарственных препаратов, применяемых для лечения нейродегенеративных заболеваний.

Конкурентные антагонисты глутамат-связывающего сайта NMDA-рецепторов — это соединения, химическая природа которых позволяет им избирательно связываться с тем же участком NMDA-рецепторного комплекса, что и глутамат. Они выигрывают конкуренцию за сайт связывания с эндогенным агонистом на рецепторном комплексе, препятствуя проявлению внутренней активности агониста. Скорость и прочность образования рецепторного комплекса с лигандом зависит от его аффинности с активным центром сайта. Эффективность антагониста также связана с его высокой биодоступностью – способностью хорошо растворятся в воде, проходить через гематоэнцефалический барьер; и низкой токсичностью.

Трёхточечная модель молекулы лиганда (два отрицательно заряженных участка в молекуле и один положительно заряженный) считается одним из необходимых условий связывания с глутаматным сайтом NMDA-рецепторного комплекса.

Введение различных фармакофорных групп в молекулу-предшественника - о-α-аминоадипиновую кислоту позволило сформировать ряды антагонистов NMDA-рецепторов и установить закономерность между их химическим строением и биологической активностью. Фосфоновая группа стала лидером в ряду данной активности, за ней следует тетразольный цикл, далее карбоксильная и сульфоновая группы.

Выводы. Таким образом, для разработки новых конкурентных антагонистов NMDA-рецепторов нами предложена идея ввести фосфоновые группы в 4- и 5- положения 2-алкилзамещенных имидазола. Предполагаем, что появление сильнейших фармакофоров – фосфоновых групп в молекуле лиганда приведёт к созданию соединений с ярко выраженной фармакологической активностью.

* * *

БАКТЕРИОФАГИ ESCHERICHIA COLI КАК ВАЖНАЯ СОСТАВЛЯЮЩАЯ КОНЦЕПЦИИ «ЕДИНОЕ ЗДОРОВЬЕ»

Пунченко Е.В.[1], Пунченко О.Е.[2], Бакланов М.А.[2], Гутцайт Е.Л.[2]
[1]Университет ИТМО,
[2]Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова,
Санкт-Петербург

Актуальность. Концепция «Единое здоровье», официально принятая ВОЗ в 2017 г. для борьбы с устойчивостью к антибиотикам и предотвращения передачи зоонозных заболеваний, - комплексный междисциплинарный подход, направленный на достижение оптимального здоровья путем признания взаимосвязи между здоровьем людей, животных и окружающей средой. *Escherichia coli* стала идеальной моделью для демонстрации этого подхода, поскольку этот вид бактерий является частью нормобиоты человека, птицы и животных, и в то же время патогенные варианты вызывают тяжелые заболевания у людей (диарея, гемолитико-уремический синдром, инфекции мочевыводящих путей, сепсис, менингит), животных (маститы у коров, диарею и сепсис у новорожденных поросят и телят) и птицы (авиарный колибактериоз). *E. coli* - один из главных игроков в глобальном кризисе устойчивости к антибиотикам. Гены резистентности (например, к цефалоспоринам - ESBL, или к колистину - ген mcr-1) свободно перемещаются между людьми, животными и окружающей средой. Выходом из создавшегося положения может стать переоценка бактериофагов, которая активно поддерживается многими странами.

Цель. Получить препараты колифагов с целью дальнейшего использования для борьбы с резистентными *Escherichia coli* на пищевых предприятиях.

Материалы и методы. В работе использовали 58 штаммов *E. coli*, выделенных из продуктов животного происхождения в бактериологической лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Санкт-Петербурге и Ленинградской области» Юго-Западный филиал ИЛЦ № 1 при плановом контроле с 2024 по 2026 год. Для определения чувствительности к антибиотикам диско-диффузионным методом использовали диски производства «Bioanalyse», Турция. Аутофаги получали из культур *E. coli* при помощи 5% раствора хлороформа с последующим центрифугированием в режиме 3000 об./мин. в течение 15 минут. Активность фагов определяли в спот-тесте. Коктейли фагов получали из отдельных аутофагов, смешивая фаги из разных штаммов *E. coli* в равных пропорциях. Для подбора фагов в коктейли использовали матрицу. Полученные фаголизаты контролировали на отсутствие бактерий и микромицетов в двух повторностях. Количество бактериофагов в полученных препаратах определяли по методу агаровых слоев Грациа. Всего было протестированы 80 комбинаций фаг-антибиотик по отношению к разным штаммам *E. coli*.

Результаты и обсуждение. Полученные результаты и их обсуждение. Из штаммов получены четыре бактериофага с литической активностью, не превышающей 1+; коктейль был приготовлен из трех фагов, комбинация которых давала наибольшее покрытие (лизис максимального количества штаммов). Несмотря на низкую литическую активность один колифаг проявлял синергию с цефокситином (задержка роста от 0 мм

в контроле до 20 мм с бактериофагом). При этом с тем же антибиотиком, но по отношению к другим резистентным штаммам *E. coli*, синергии не наблюдалось. Чаще синергия фаг-антибиотик была с азтреонамом (задержка роста 28 мм по сравнению с 21 мм в контроле). Коктейль из фагов только в одном случае оказался эффективнее, чем фаги по отдельности; наоборот, в большинстве случаев диаметр задержки роста культуры вокруг диска с антибиотиком был меньше, чем в контроле без фага, что говорит об антагонизме препаратов.

Вывод. Методика получения бактериофага из бактериальной культуры не представляет затруднений, однако дальнейший подбор коктейлей фагов является достаточно трудоемким и требует большого количества расходных материалов и времени. В дальнейшем полученные препараты необходимо изучить на отсутствие генов вирулентности и устойчивости к противомикробным препаратам, а также безвредности для животных с целью использования в пищевой индустрии для биологической дезинфекции и продления срока годности пищевых продуктов.

Список литературы:

1. *Глобальный веб-сайт ВОЗ // URL: https://www.who.int/ru (дата обращения: 10.07.2026).*
2. *Strathdee S. A. et al. Phage therapy: From biological mechanisms to future directions //Cell. – 2023. – Т. 186. – №. 1. – С. 17-31.*
3. *Kortright K. E. et al. Phage therapy: a renewed approach to combat antibiotic-resistant bacteria //Cell host & microbe. – 2019. – Т. 25. – №. 2. – С. 219-232.*
4. *Макавчик С. А., Полищук Н. В. Распространение на животноводческих фермах Escherichia coli, синтезирующих бета-лактамазы расширенного спектра // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. – 2022. – №. 2. – С. 44-48.*
5. *Забровская А. В. Патогенные Escherichia coli: факторы вирулентности, распространение, проблемы диагностики //Международный вестник ветеринарии. – 2023. – №. 4. – С. 87-95.*
6. *Российские рекомендации. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. Версия 2025-01. Год утверждения (частота пересмотра): 2025 (пересмотр ежегодно). – МАКМАХ, СГМУ: Смоленск, 2025. – 208 с.*

* * *

НЕЙРОПЕПТИДНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННЫХ НАРУШЕНИЙ ПОВЕДЕНИЯ

Пюрвеев С.С.
Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Стресс в критические периоды онтогенеза способен нарушать механизмы адаптации и формировать предрасположенность к импульсивному и компульсивному поиску вознаграждения.

Цель. Установить изменения дофаминергической и нейропептидных систем и оценить возможности фармакологического восстановления адаптивного контроля поведения.

Материалы и методы. Исследование выполнено на крысах с применением моделей хронической социальной изоляции, ранней изоляции от матери и гипердофаминергии при нарушении функции транспортера дофамина Slc6a3. Поведение оценивали в тестах рискованного выбора, закапывания шариков, открытого поля, внутричерепной самостимуляции и эмоционального переедания. Высвобождение дофамина в прилежащем ядре регистрировали методом быстрого циклического вольтамперометрического сканирования, обмен моноаминов — методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Изучали эффекты кисспептина-10, антагонистов GHSR-1a [D-Lys3]-GHRP-6 и YIL 781 и антагониста MC4R ML-00253764.

Результаты и обсуждение. Социальная изоляция формировала аддиктивный фенотип: животные чаще выбирали маловероятное, но высокое вознаграждение, а стимуляция зоны положительного подкрепления вызывала усиленное высвобождение дофамина в прилежащем ядре. После изоляции от матери базальный уровень дофамина не изменялся, однако при вероятностном режиме VR6 его фазовый выброс превышал показатели при фиксированном режиме FR3; одновременно возрастал обмен дофамина и серотонина в гипоталамусе. Частичный и полный нокаут Slc6a3 формировали соответственно ригидность мотивированного выбора и дезорганизацию оценки результата. Кисспептин-10 обладал подкрепляющими свойствами, усиливал самостимуляцию и снижал потребление пищи при конкуренции мотиваций. Антагонисты GHSR-1a уменьшали рискованный выбор, импульсивность и компульсивность, причем YIL 781 действовал выраженнее. Блокада MC4R снижала тревожность, депрессивноподобные проявления и агрессивность.

Вывод. Ранний стресс долговременно сенситизирует систему вознаграждения, ограничивает поведенческую адаптацию и нарушает контроль поведения. Модуляция грелиновой и меланокортиновой систем способствует восстановлению адаптивных реакций и представляет перспективное направление коррекции стресс-ассоциированных аддикций. Участие кисспептиновой системы в перераспределении мотивационных приоритетов следует учитывать при разработке фармакологических стратегий повышения устойчивости к последствиям стресса.

КОРРЕКЦИЯ ФЛУОКСЕТИНОМ И МЕТФОРМИНОМ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ У КРЫС ЛИНИИ WISTAR В МОДЕЛИ ПРЕРЫВИСТОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ

Романовский А.С., Игнатова П.Д., Ереско С.О.
Институт экспериментальной медицины,
Санкт-Петербург

Хроническое воздействие этанола сопровождается нейрохимическими, метаболическими и поведенческими нарушениями. Модели прерывистой алкоголизации позволяют воспроизводить циклы интоксикации и отмены и оценивать формирующиеся на их фоне изменения поведения. Флуоксетин, селективный ингибитор обратного захвата серотонина, потенциально способен влиять активность NLRP3-инфламмасомы. Метформин влияет на AMPK-зависимые пути, митохондриальную функцию и воспалительный ответ. Целью исследования была оценка влияния флуоксетина и метформина на поведенческие паттерны крыс Wistar при прерывистой алкоголизации (ПА).

Материалы и методы. Крысам Wistar (n=51; средняя масса 300 г) зондом вводили 25% этанол в дозе 4 г/кг в течение 28 суток по схеме 2 дня алкоголизации/2 дня отмены. Поведение оценивали в тестах «Открытое поле» (ОП) и «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) до и после алкоголизации, а также после 14-дневного курса терапии. В ОП в течение 5 мин регистрировали двигательную и исследовательскую активность и тревожность; в ПКЛ — показатели тревожности. Препараты вводили внутрибрюшинно в течении 14-ти дней: флуоксетин 3 мг/кг (n=7) и 6 мг/кг (n=7), метформин 150 мг/кг (n=5) и 300 мг/кг (n=4). Контрольная группа не получала этанол и препараты (n=14); группа ПА не получала лечения (n=14). Статистический анализ выполнен в GraphPad Prism 10.2 с использованием двухфакторного ANOVA и критерия Тьюки–Крамера.

Результаты. После ПА двигательная активность в ОП снизилась на 56–78% относительно исходного уровня. Флуоксетин 6 мг/кг восстанавливал ее до исходных значений, тогда как доза 3 мг/кг значимого эффекта не оказывала. В ПКЛ после ПА тревожность увеличивалось на 66–77%; флуоксетин 6 мг/кг снижал её на 24%, тогда как 3 мг/кг увеличивал на 11%. Исследовательская активность после ПА снижалась на 58–75%; обе дозы флуоксетина значимого эффекта не оказывали. Метформин 150 мг/кг увеличивал двигательную активность на 39,4%, снижал тревожность на 38% и повышал исследовательскую активность на 80%. Доза 300 мг/кг не изменяла двигательную и исследовательскую активность и увеличивала тревожность на 20%.

Выводы. ПА вызывает выраженные нарушения двигательной и исследовательской активности, а также усиливает тревожность у крыс линии Wistar. Наиболее выраженный корректирующий эффект наблюдался при применении флуоксетина в дозе 6 мг/кг и метформина в дозе 150 мг/кг, тогда как более низкая доза флуоксетина и более высокая доза метформина демонстрировали меньшую эффективность.

* * *

НЕЛИНЕЙНАЯ ДИНАМИКА РИТМОВ КРОВООБРАЩЕНИЯ КАК МАРКЕР ИЗМЕНЧИВОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ДИНАМИЧЕСКОГО ГОМЕОСТАЗА

Рубинский А.В.
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург

В рамках концепции функционального динамического гомеостаза (homeodynamics) организм рассматривается как сложная динамическая система, поддерживающая устойчивость через непрерывную изменчивость параметров (Petitjean et al., 2025). При хронических заболеваниях возникает рассогласование регуляторных механизмов с компенсаторной перестройкой: снижением сложности ритмов одного звена и «перегрузкой» другого. Эти изменения отчётливо проявляются в системе кровообращения при нагрузке и нивелируются в процессе респираторной реабилитации (РР). Линейные показатели не позволяют оценить динамику компенсаторных механизмов из-за чувствительности к нестационарности процесса, тогда как нелинейные методы — энтропийный и графический анализ — дают возможность количественно охарактеризовать сложность динамики системы кровообращения (Gronwald et al., 2024).

Цель. Выявить закономерности восстановления функционального динамического гомеостаза по нелинейным показателям гемодинамических параметров.

Материалы и методы. Обследовано 20 пациентов пульмонологического профиля с бронхообструктивным синдромом в возрасте 56–68 лет, проходивших РР. Исследование проводили до и после курса на спироартериокардиоритмографе (САКР), регистрирующем синхронно и непрерывно ЭКГ для RR-интервалов (сердечный ритм) и артериальное давление методом Penaz (Pivovarov, 2006) для SSTI- (между систолическими пиками) и DDTI-интервалов (между диастолическими минимумами). По ритмограммам интервалов рассчитывали аппроксимированную (ApEn) и выборочную (SampEn) энтропию, а также параметры облаков Пуанкаре. Статистическую обработку проводили с использованием критерия Вилкоксона.

Результаты. Установлено, что комбинация нелинейных параметров для RR-интервалов статистически значимо различалась до и после реабилитации ($p = 0,01$); при этом SampEn значимо увеличился ($p < 0,05$), что свидетельствует о повышении сложности сердечного ритма. Для SSTI-интервалов значимые изменения зафиксированы для параметров облака Пуанкаре ($p < 0,05$), что отражает перестройку частотных характеристик сосудистого ритма.

Выводы. Таким образом, применение нелинейных методов анализа продемонстрировало эффективность респираторной реабилитации для системы кровообращения. Увеличение SampEn отражает восстановление функционального динамического гомеостаза у пациентов пульмонологического профиля.

* * *

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОСТРАНСТВА ПРИЗНАКОВ АРТЕРИАЛЬНОЕ ДАВЛЕНИЕ – УДАРНЫЙ ОБЪЕМ ДЛЯ АНАЛИЗА ГЕМОДИНАМИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

Рыжов М.В., Куропатенко М.В., Барсуков М.С.
Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

В современном обществе в условиях снижения физической активности у населения повышаются риски возникновения неинфекционных заболеваний сердечно-сосудистой системы. В связи с этим, появляется необходимость в новых методах оценки состояния кардиоваскуляторной системы пациентов.

Цель. Апробация метода анализа гемодинамических состояний с использованием двумерного пространства признаков: артериальное давление (АД) – ударный объем крови (УОК).

Материалы и методы. Одним из способов изучения гемодинамических состояний является анализ функциональных зависимостей между различными гемодинамическими показателями в двумерном пространстве. Наиболее понятным с точки зрения возможностей физиологической интерпретации отображаемых на нём распределений значений признаков является пространство АД – УОК.

В исследовании применялся регистратор «КАРДИОТЕХНИКА-САКР» (НАО «ИНКАРТ) для поударного измерения АД методом Пеназа, а также синхронной регистрации электрокардиограммы (ЭКГ). Для регистрации УОК применялся реограф «Диамант-Р» (ООО «Диамант»). Измерения с двух приборов синхронизировались по времени по ЭКГ.

Показатели АД и УОК регистрировались у молодого испытуемого Р. (возраст 20 лет) в положении лёжа на спине на механургическом столе с отклонением ложа стола от горизонта в 0, -10 и +10 градусов.

Результаты. Распределению при нулевом отклонении механургического стола от линии горизонта соответствуют среднее значение и стандартное отклонение САД 112,2±1,8 мм.рт.ст., УОК 101,9±7,3 мл, с диапазонами значений САД от 108 до 117 мм.рт.ст. и УОК от 83,4 до 112,3 мл, всего 200 точек. Распределению при отклонении механургического стола от линии горизонта на -10 градусов (голова испытуемого находится ниже ног) соответствуют среднее значение и стандартное отклонение САД 109,1±2,1 мм.рт.ст., УОК 115,5±7,6 мл, с диапазонами значений САД от 104 до 116 мм.рт.ст. и УОК от 93,2 до 129,6 мл, всего 192 точки. Распределению при отклонении механургического стола от линии горизонта на +10 градусов соответствуют среднее значение и стандартное отклонение САД 108,4±1,7 мм.рт.ст., УОК 102,9±7,3 мл, с диапазонами значений САД от 104 до 113 мм.рт.ст. и УОК от 85,9 до 125,6 мл, всего 189 точек.

Области распределения для каждого угла наклона стола имеют различную протяженность и направление, что говорит о различных способах регуляции сердечно-сосудистой системы в каждом из положений у испытуемого. Например, используя модель, основанную на электродинамических аналогиях, можно предположить, что в горизонтальном положении у испытуемого преобладает регуляция за счет инотропного эффекта. При угле отклонения от горизонта -10 градусов в регуляции сердеч-

но-сосудистой системы преобладает вазодилатация и вазоконстрикция. При угле +10 градусов наблюдается сочетание регуляторных механизмов с отсутствием явного преобладания одного из них.

Выводы. Апробация метода анализа гемодинамических состояний показала, что даже в схожих положениях лёжа на спине с разницей в 10 градусов были выявлены значимые различия в динамике показателей, описывающих состояние сердечно-сосудистой системы, а также были сделаны предположения о способах её регуляции. Метод позволяет анализировать гемодинамические состояния в различных положениях и обнаруживать имеющиеся проблемы регуляции состояния сердечно-сосудистой системы у пациентов.

* * *

ИССЛЕДОВАТЬ ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА КАЛИФОРНИЙСКОГО КРАСНОГО ЧЕРВЯ С ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИМ АКТИВНЫМ ВЕЩЕСТВОМ «АЗАМЗАР» НА ДЕРМУ (КОЖУ) В КОНТЕКСТЕ ПРОФИЛАКТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ У ЛЮДЕЙ

Saidaminbek S.M.
Ташкентский государственный медицинский университет, Термез, Узбекистан

Актуальность. Основной задачей нашего исследования является получение экстракта из калифорнийского дождевого червя. Этот экстракт оказывает сильное иммуностимулирующее воздействие на организм млекопитающих и птиц как в обычном состоянии, так и при различных заболеваниях. Это приводит к повышению выработки антител, улучшению состояния иммунных тканей и увеличению числа стволовых клеток, отвечающих за образование крови.

Цель. Основной задачей нашего исследования является получение экстракта из калифорнийского дождевого червя. Этот экстракт оказывает сильное иммуностимулирующее воздействие на организм млекопитающих и птиц как в обычном состоянии, так и при различных заболеваниях. Это приводит к повышению выработки антител, улучшению состояния иммунных тканей и увеличению числа стволовых клеток, отвечающих за образование крови.

Материалы и методы. Иммунологические, физиологические, токсикологические, гематологические и статистические методы анализа. Эксперименты проведены на белых беспородных крысах самцах 2-3 месячного возраста, массой тела 150-180 г. АКД вызывали сенсибилизированным 5%-м раствором 2,4- динитрохлорбензола(ДНХБ) по методике П. М.Залкан. Раны наносились под эфирным наркозом в стерильных условиях. На депилированную межлопаточную область спины размером 3 × 3 см наносили двукратно ДНХБ. Исследование проводили утром, время на 4, 6, 10- суток после начала эксперимента. Животных разделили на следующие группы, в каждой группе n=6:

Результаты и обсуждение. Как хорошо известно, разработка ранозаживляющих средств обладает широким спектром фармакологических эффектов и фармакотерапевтического воздействия на различные стадии процесса заживления ран. В этом исследовании мы оценили эффективность крема Azamzar для лечения кожных и мышечных ран. Кожно-мышечную рану воспроизводили под гексеналовым наркозом (70 мг/кг) путем иссечения в области спины животных кожно-фасциального лоскута площадью 300 мм² на предварительно выстриженных участках . Крема Azamzar начинали наносить сразу после образования раны и затем ежедневно на протяжение 24 суток.

Динамику скорости сокращения и заживления раневого дефекта определяли по методу Л.Н. Поповой (1942). На рану ежедневно накладывалась стерильная пластинка целлофана, и на нее наносились контуры раны, затем рисунок переносился на миллиметровую бумагу, и подсчитывалась площадь ран.

На 24-е сутки опыта на фоне применения крема Azamzarнаблюдалось полное закрытие раневого дефекта кожи, тогда как у животных контрольной группы, а также при использовании мазь - Левомеколь оставались незажившие раневые поверхности. Таким образом, при проведении эксперимента было установлено, что крем Azamzar обладает выраженной ранозаживляющей активностью, ускоряя заживления кожно-мышечного дефекта на более ранних сроках патологического процесса.

Выводы. Экстракт, полученный из калифорнийского дождевого червя, оказывает сильное иммуностимулирующее воздействие на организм млекопитающих и птиц, как в обычных условиях, так и при различных заболеваниях. Он способствует увеличению выработки антител, улучшению клеточной активности иммунных тканей и стимулирует.

* * *

SAFETY ASSESSMENT OF ENTEROCIN LD3 PURIFIED FROM A FOOD-GRADE ENTEROCOCCUS HIRAE LD3

Santosh Kumar Tiwari
Maharshi Dayanand University,
Haryana, India

Enterocin LD3, a bacteriocin produced by Enterococcus hirae LD3, was previously isolated from batter of Dosa and characterized for unique mass, sequence, stability and antimicrobial activity against pathogenic bacteria. In this study, safety assessment of enterocin LD3 was evaluated in cell lines and mice model. It does not show haemolysis up to 400 µg/mL and IC50 was found to be 643.16 ± 6.75 µg/mL against human embryonic kidney (HEK-293) cell line. Enterocin LD3 was purified to homogeneity and applied intraperitoneally to male Swiss albino mice. The level of SGOT (149.5 ± 2.0 U/L), SGPT (68.7 ± 9.8 U/L), urea (25 ± 4.2 mg/dL) and creatinine (0.92 ± 0.1 mg/dL) were found to be in the normal range. In contrast, acetamiprid-treated mice (positive control) exhibited significantly higher level of SGOT (288.4 ± 38 U/L), SGPT (98.3 ± 31.1 U/L), urea (32.8 ± 4.7 mg/dL) and creatinine (2.4 ± 0.7 mg/dL). In addition, there were no significant changes observed during histopathological analysis of liver and kidney tissues after treatment of mice with enterocin LD3. Although, these are initial findings and need further investigations, it indicates safety profile of enterocin LD3 for its applications in food and clinical settings.

✶ ✶ ✶

ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ КУМАРИНА НА СОДЕРЖАНИЕ АДЕНИЛОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ ПРИ ГИПОКСИИ

Селина Е.Н., Каширин А.О., Бычков Е.Р., Крылова И.Б., Родионова О.М., Шабанов П.Д.

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Актуальность. Кумарины являются перспективными для синтеза большого количества производных, которые могут обладать биологической активностью. В настоящее время обнаружен широкий спектр фармакологических свойств синтетических производных кумаринов. В отделе фармакологии им. С.В. Аничкова ФГБНУ «ИЭМ» были синтезированы производные кумарина, у двух из которых ИЭМ-2266 и ИЭМ 2267 обнаружено антигипоксантное действие на моделях гипоксической гипоксии с гиперкапнией, гистотоксической и гемической гипоксии у мышей, а также у крыс при гипобарической гипоксии. В основе всех нарушений характерных для любого вида гипоксии лежит недостаточность энергообразующей системы митохондриального окислительного фосфорилирования, при которой продукция энергии не соответствует энергетическим потребностям клетки. Изучение механизмов действия новых соединений, проявляющих антигипоксантные свойства, выявление их влияния на метаболические реакции, в том числе и энергетические процессы, представляет теоретический и практический интерес.

Цель. Изучение влияния производных кумарина ИЭМ-2266 и ИЭМ-2267 в сравнении с эталонным антигипоксантом мексидолом на содержание адениловых нуклеотидов при острой гипобарической гипоксии у крыс.

Материалы и методы. Опыты выполнены на крысах-самцах линии Вистар. Острую гипобарическую гипоксию моделировали у крыс с помощью барокамеры, имитируя подъем животных на высоту 9500 м. Время пребывания крыс на данной высоте составляло 10 мин. С учетом «подъема и спуска с высоты» время пребывания в камере составило 20 мин. Животных рандомно разделили на 5 групп: 1-интактные крысы; 2-контрольные животные (подвергнутые гипоксии); 3, 4 и 5-животные получавшие соответственно ИЭМ-2266 (25 мг/кг), ИЭМ-2267 (25 мг/кг) и мексидол(100 мг/кг) и подвергнутые гипоксии. Исследуемые соединения и препарат сравнения мексидол вводили животным внутрибрюшинно за 50 мин до помещения их в барокамеру, контрольные животные получали физиологический раствор в эквивалентном объеме. Крыс декапитировали сразу после окончания гипоксического воздействия, извлекали печень. В нейтрализованных безбелковых экстрактах ткани печени определяли содержание адениловых нуклеотидов методом обращенно-фазной ВЭЖХ на колонке RPC18 (4,6 х 25 мм), используя систему BeckmanSystemGold и УФ детектор Saphire 600 (λ=254 нм).

Результаты и обсуждение. В результате проведенных исследований установлено, что в условиях нашего эксперимента у животных контрольной группы наблюдались нарушения в энергетическом метаболизме, которые приводили к дефициту энергии. Эти нарушения проявлялись в снижении содержания в ткани печени АТФ в 2,8 раза, АДФ в 1,5 раза и увеличении АМФ в 2,1 раза. ИЭМ-2267 и в меньшей степени ИЭМ-2266 оказывали энергостабилизирующее действие сопоставимое с таковым у мексидола.

Производные кумарина увеличивали содержание АТФ в 1,8 и 1,2 раза, АДФ в 1,4 и 1,2 раза, снижали уровень АМФ в 2 и в 2,2 раза, соответственно, по сравнению с гипоксией.

Выводы. Таким образом, результаты исследования показали, что антигипоксантное действие производных кумарина ИЭМ-2266 и ИЭМ 2267, обусловлено их энергостабилизирующей способностью, благодаря которой происходит повышение адаптационных возможностей организма и сохранение функциональной активности клеток при гипоксии.

✶ ✶ ✶

СРАВНЕНИЕ СТЕПЕНИ УСВОЕНИЯ РИТМА ФОТОСТИМУЛЯЦИИ ЛИЦАМИ С РАЗЛИЧНЫМ ВЕГЕТАТИВНЫМ ТОНУСОМ

Соколова Е.А., Гусева Н.Л., Кузнецова Ю.А.
Институт экспериментальной медицины,
Санкт-Петербург

Исследование механизмов усвоения ритмов фотостимуляции является одним из ключевых подходов в оценке функционального состояния центральной нервной системы (ЦНС). Однако связь между типом вегетативной регуляции (нормотоники, симпатотоники, ваготоники) и степенью усвоения навязанного ритма практически не была изучена.

Цель. Выявление статистически значимой связи между уровнем усвоения ритма фотостимуляции (обозначаемым как «достаточно отчетливый» и «отчетливый») и исходным вегетативным тонусом испытуемых, определяемым по спектральным показателям вариабельности сердечного ритма. Предполагается, что испытуемые симпатотоники должны показывать более высокую степень усвоения ритма по сравнению с ваготониками.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 10 здоровых добровольцев, средний возраст которых составил 20-24 года. Была проведена 21 канальная регистрация электроэнцефалограммы (ЭЭГ) при предъявлении фотостимуляции в диапазоне частот от 2 до 24 Гц с шагом 2 Гц. Усвоение ритма оценивалось по максимальным значениям спектральных составляющих, соответствующих частоте фотостимуляции. Кроме того, независимо от ЭЭГ была проведена запись электрокардиограммы для анализа вариабельности сердечного ритма (ВСР). Для оценки исходного вегетативного тонуса проводился спектральный анализ записи ВСР в покое. При этом выделялись два основных компонента: мощность спектра в низкочастотном LF (Low Frequency, 0,05-0,15 Гц) и высокочастотном HF (High Frequency, 0,16-0,4 Гц) диапазонах. Отношение LF/HF является показателем симпатовагусного баланса. Согласно стандартной оценке ВСР, значения LF/HF в диапазоне 1,5-3 интерпретировались как нормотония, >3 как симпатотония, а <1,5 как ваготония.

Результаты. В результате, распределение испытуемых по типам вегетативной регуляции оказалось следующим: 2 – нормотоника, 4 – симпатотоника и 4 – ваготоника. По степени усвоения ритма, отчетливое усвоение зафиксировано у 2 испытуемых, а достаточно отчетливое у 8. При сопоставлении полученных результатов не было обнаружено явной связи между степенью усвоения и типом вегетативной регуляции. Среди испытуемых с отчетливым усвоением были 1 нормотоник и 1 ваготоник, а с достаточно отчетливым – 4 симпатотоника, 3 ваготоника и 1 нормотоник.

Выводы. На текущем этапе связь между вегетативным тонусом и степенью усвоения ритма фотостимуляции не установлена. Однако полученный результат указывает на необходимость проведения дальнейшего исследования на более широкой выборке.

* * *

СОВРЕМЕННЫЕ СТРАТЕГИИ ПРИМЕНЕНИЯ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ ДЛЯ ТЕРАПИИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ, ВЫЗВАННОЙ ПОЛИРЕЗИСТЕНТНЫМИ ВОЗБУДИТЕЛЯМИ

Степаненко Д.А.
ООО «Элементс»,
Донецк

Бактериальная пневмония остаётся одной из ведущих причин госпитализации и смертности, а рост антибиотикорезистентности ограничивает возможности её лечения. Особую проблему представляют метициллин-резистентный *Staphylococcus aureus* (MRSA) и карбапенем-резистентная *Klebsiella pneumoniae*. В условиях сокращения арсенала антибиотиков антимикробные пептиды (АМП) рассматриваются как перспективный терапевтический подход благодаря широкому спектру активности и многотаргетному механизму действия. Цель работы — обобщить данные о механизмах действия и терапевтическом потенциале АМП при пневмонии, вызванной полирезистентными возбудителями.

Проведён анализ оригинальных исследований и обзоров, опубликованных в PubMed, Scopus и Web of Science в 2020–2026 гг. и посвящённых применению АМП в моделях бактериальной пневмонии *in vitro* и *in vivo*. Рассматривались пептиды, активные в отношении MRSA и резистентных штаммов *K. pneumoniae*, а также работы по повышению протеолитической стабильности, синергизму АМП с антибиотиками.

Анализ показал, что эффективность АМП определяется сочетанием мембранных и внутриклеточных механизмов: нарушением целостности мембран, связыванием с ДНК, накоплением активных форм кислорода, истощением АТФ и метаболической интерференцией. В экспериментальных моделях пептиды демонстрировали активность против MRSA и *K. pneumoniae*. Линейный пептид на основе повторяющихся последовательностей D-триптофана, D-аргинина и D-лизина сохранял стабильность и проявлял бактерицидное действие *in vitro* и *in vivo*. Tryptolycin (TRPY) при минимальной ингибирующей концентрации ≤1 мкмоль/л обеспечивал эрадикацию до 99,9% планктонных и персистирующих форм возбудителей и снижал бактериальную нагрузку в 3–5 раз. АМП также способны воздействовать на биоплёнки, устойчивость которых к антибиотикам может превышать таковую планктонных форм в 10–1000 раз. Ограничениями остаются протеолитическая нестабильность; для её преодоления применяются D-аминокислоты, циклизация, наночастицы и гидрогелевые системы доставки.

Таким образом, АМП обладают потенциалом для терапии пневмонии, вызванной полирезистентными возбудителями, благодаря многокомпонентному механизму действия и способности воздействовать на биоплёнки. Перспективными направлениями являются оптимизация структуры пептидов и повышение стабильности. Подтверждение клинической эффективности и безопасности требует многоцентровых исследований.

* * *

РОЛЬ NLRP3-ИНФЛАММАСОМЫ И ПОЛЯРИЗАЦИИ МИКРОГЛИИ В ПАТОГЕНЕЗЕ КОГНИТИВНЫХ НАРУШЕНИЙ ПРИ НЕЙРОВОСПАЛЕНИИ

Степаненко Д.А.
ООО «Элементс»,
Донецк

Нейровоспаление рассматривается как значимый фактор прогрессирования нейродегенеративных заболеваний центральной нервной системы. Одним из ключевых механизмов является активация NLRP3-инфламмасомы с усилением продукции провоспалительных цитокинов и смещением поляризации микроглии. Цель исследования — оценить вклад поляризации микроглии и периферических цитокинов в развитие когнитивных нарушений при экспериментальном нейровоспалении, а также определить эффективность таргетного ингибирования NLRP3-инфламмасомы. Исследование выполнено на 60 взрослых самцах крыс линии Wistar массой 220–250 г, разделенных на интактную (n=20), группу хронического введения липополисахарида (ЛПС; n=20) и группу ЛПС с ингибитором NLRP3 MCC950 (n=20). ЛПС вводили внутрибрюшинно в дозе 0,5 мг/кг ежедневно в течение 7 дней, MCC950 — в дозе 10 мг/кг за 30 минут до каждой инъекции ЛПС. Пространственную память оценивали в водном лабиринте Морриса на 1, 7 и 14-е сутки. В гиппокампе методом ИФА определяли уровни ИЛ-1β и ФНО-α, методом ПЦР в реальном времени — экспрессию маркеров М1-фенотипа iNOS и М2-фенотипа Arg-1. Микроглию оценивали иммуногистохимически по Iba-1 и морфометрически. Статистическую обработку проводили методом однофакторного дисперсионного анализа ANOVA с пост-хок тестом Тьюки; различия считали значимыми при $p<0,05$. На 7-е сутки у животных, получавших ЛПС, время поиска платформы увеличивалось на 42% ($p<0,01$), содержание ИЛ-1β и ФНО-α в гиппокампе возрастало соответственно в 4,1 и 3,2 раза ($p<0,001$). Экспрессия iNOS повышалась в 5,6 раза, тогда как уровень Arg-1 снижался на 37% ($p<0,05$), что указывало на преобладание провоспалительной поляризации микроглии. Морфометрически выявлялись увеличение площади клеток в 1,8 раза и ретракция отростков. Применение MCC950 сокращало время поиска платформы на 28% по сравнению с нелеченой группой ($p<0,01$), снижало уровень ИЛ-1β на 53% ($p<0,001$) и увеличивало соотношение Arg-1/iNOS в 2,1 раза ($p<0,05$). Полного восстановления нейрональной архитектоники не отмечалось, уровень BDNF был на 22% ниже контрольного. Таким образом, активация NLRP3-инфламмасомы и связанный с ней дисбаланс цитокинов являются важными, но не единственными звеньями патогенеза когнитивной дисфункции при системном воспалении. Ингибирование NLRP3 оказывает нейропротективное действие, однако для полного восстановления функций может потребоваться сочетанная коррекция воспалительных и нейротрофических механизмов.

* * *

ЗАЩИТНЫЙ ЭФФЕКТ АНТИГИПОКСАНТОВ ПРИ СОВМЕСТНОМ ПЕРЕЖИВАНИИ МЫШАМИ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ

Степанов Д.В., Евсеев А.В., Мосин О.А., Евсеева М.А., Сосин Д.В.
Смоленский государственный медицинский университет, Смоленск

Актуальность. В последнее время в защитном действии антигипоксантов аминотиолового происхождения и металлокомплексных соединений были выявлены принципиальные отличия. В частности, металлокомплексы, демонстрируя в эксперименте ярко выраженный защитный эффект, в отличие от таких антигипоксантов как гутимин и амтизол, на животных действовали угнетающе, тормозя их моторную активность, снижая температуру тела и замедляя частоту сердечных сокращений и дыхания. Именно эти изменения в состоянии организма позволяли животным успешно пережить продолжительный гипоксический эпизод.

Цель. Изучить особенности действия аминотиоловых и металлокомплексных антигипоксантов на животных, подвергнутых острой гипоксии в парах.

Материалы и методы. Опыты выполнены на 40 линейных мышах-самцах с массой тела 25 г. Состояние острой гипоксии с гиперкапнией моделировали, помещая пары животных в стеклянные герметично закрывающиеся ёмкости (конические колбы) объёмом 0,5 л. Резистентность к гипоксии оценивали по показателю продолжительности жизни. В опытах использовали 3 схемы: 1) контроль + контроль, 2) контроль + антигипоксант, 3) антигипоксант + антигипоксант. В качестве фармакологической защиты использовали вещества, зарекомендовавшие себя ранее как высокоэффективные протекторы гипоксии: из аминотиоловой группы – амтизол (антигипоксант), 2) из группы цинксодержащих металлокомплексов – πQ2721 (прогипоксант). Антигипоксанты вводили внутрибрюшинно в дозах 50 и 100 мг/кг за 60 мин. до помещения животных в герметичные ёмкости. Все результаты обработаны статистически.

Результаты и обсуждение. Средняя продолжительность жизни для 7-ми пар мышей контрольной группы составила 25,6 мин. При этом, для тех, что погибли первыми – 23,3 мин., а для проживших дольше – 28,0 мин. Разница в продолжительности жизни составила 4,7 мин. Как показали опыты, в условиях острой гипоксии пары мышей, получавших антигипоксические вещества аминотиолового происхождения (амтизол) и металлокомплексной структуры (πQ2721) по-разному проявляют свои защитные свойства, что также отражается и на судьбе их не получавших защиту «соседей».

Вывод. Металлокомплекс πQ2721 не только обеспечивает повышение показателя продолжительности жизни у мышей при тотальном его введении, но также повышает вероятность выживания животных, оказавшихся без фармакологической защиты. Антигипоксант амтизол в дозе 100 мг/кг продемонстрировал феномен «обкрадывания» интактных мышей. Однако вещество, отнесённое к прогипоксантом, и как предполагалось, должное терять свою эффективность в паре с интактным животным, напротив, проявило себя более ярко, чем аминотиоловый антигипоксант. Интактные мыши, бла-

годаря введению металлокомплекса их парам, прожили гораздо дольше, чем животные контрольной группы. Полученные результаты заставляют, с другой стороны, взглянуть на практическую ценность известных антигипоксантов, что требует проведения их испытаний не только на индивидуальных особях, но и на целых группах.

* * *

ADDING GUT MICROBIOME PROFILING TO CLINICAL RISK ASSESSMENT

Suvorova M.A., Lyudyno V.I.
Saint Petersburg, Russia

Introduction. Clinical risk assessment already combines patient history, family history, lifestyle factors, laboratory markers, imaging, endoscopy, histopathology, and genetic testing. Growing evidence suggests that the gut microbiome may provide an additional layer of clinically relevant information. Microbiome alterations have been associated with colorectal cancer (CRC), inflammatory bowel diseases (IBD), and metabolic disorders. CRC patients have reproducible microbial signatures across independent cohorts. In IBD, changes in microbial diversity, depletion of butyrate-producing bacteria, and expansion of pro-inflammatory taxa have been linked to intestinal inflammation and disease activity. Gut microbiome alterations have been associated with obesity, insulin resistance, type 2 diabetes, and metabolic liver disease.

Materials and methods. To evaluate standardized targeted gut microbiome profiling as an additional component of clinical risk assessment and patient stratification, with particular emphasis on CRC, IBD, and metabolic disorders, and as a platform for generating structured clinical datasets suitable for collaborative research and publication. Colonoflor Optima (Alphalab, Russia) is a standardized real-time quantitative PCR panel for assessment of the colonic microbiota. It measures 33 microbiological parameters, including selected bacterial species and genera, total bacterial load, microbial ratios, and pathogenicity markers. The panel includes microorganisms relevant to colorectal carcinogenesis, intestinal inflammation, mucosal homeostasis, and host metabolism, including *Fusobacterium nucleatum, Parvimonas micra, Faecalibacterium prausnitzii, Akkermansia muciniphila, Ruminococcus gnavus, Eubacterium rectale, Roseburia inulinivorans,* and *Dysosmobacter welbionis*, as well as methanogenic archaea and other members of the intestinal microbiota. A defined quantitative panel provides standardized variables that can be integrated with clinical, laboratory, endoscopic, histological, anthropometric, and lifestyle data.

Results. In CRC, microbiome-derived parameters may complement established clinical, endoscopic, and histological factors in studies of patients with colorectal cancer, adenomas, precancerous lesions, or increased CRC risk. In IBD, microbiome profiles can be evaluated together with inflammatory markers, fecal calprotectin, endoscopic findings, treatment response, and disease activity. In metabolic disorders, microbiome parameters can be integrated with BMI, glucose and insulin metabolism, lipid profiles, liver biomarkers, and dietary factors. Microbiome profiling should not replace established diagnostic or screening procedures. Its potential value lies in providing complementary biological information that may improve patient phenotyping and stratification. Standardized quantitative data generated using Colonoflor Optima can also support observational and longitudinal studies, subgroup analysis, biomarker discovery, multivariable risk models, and collaborative scientific publications.

Conclusion. CRC, IBD, and metabolic disorders are three clinically relevant areas in which gut microbiome profiling may add value to existing risk-assessment frameworks. Standardized targeted quantitative PCR using Colonoflor Optima provides a practical approach for integrating microbiome-derived parameters into clinical research and for evaluating their contribution to patient stratification in well-characterized cohorts.

ВЛИЯНИЕ АНТАГОНИСТОВ РЕЦЕПТОРОВ ОРЕКСИНА НА КОМПУЛЬСИВНОЕ ПОВЕДЕНИЕ КРЫС С НОКАУТОМ ГЕНА ДОФАМИНОВОГО ТРАНСПОРТЕРА

Суров Д.В., Лебедев А.А., Шабанов П.Д.
Институт экспериментальной медицины,
Санкт-Петербург

Актуальность. Дофаминовый транспортер (DAT) является белком-переносчиком, который обеспечивает обратный захват дофамина из синаптической щели, что способствует прекращению дофаминергической синаптической передачи. Крысы с нокаутом дофаминового транспортера (DAT-KO) используются при изучении патологий, ассоциированных с нарушением гомеостаза дофамина, в том числе компульсивного поведения. Антагонисты рецепторов орексина модулируют дофаминергическую передачу и рассматриваются в качестве перспективных средств для лечения аддиктивных расстройств.

Материалы и методы. Исследование проведено на 24 самцах крыс DAT-KO, гетерозигот (DAT-HET) и дикого типа (WT). Для оценки компульсивного поведения использовался тест закапывания шариков. Тестирование проводилось в пластмассовых клетках размером 20x25x17 см, наполненных древесными опилками с высотой слоя в 5 см. На поверхности опилок равноудаленно размешались 20 стеклянных шариков диаметром 1 см. Продолжительность тестирования составила 30 минут. В конце тестирования проводился подсчет количества закопанных и незакопанных шариков. К закопанным относились шарики, покрытые опилками на 2/3 высоты или более. В первый день эксперимента проводилась оценка базового уровня компульсивного поведения в исследуемых группах. На второй и третий день за 30 минут до начала эксперимента осуществлялось внутрибрюшинное введение растворов SB-408124 (20 мг/мл) и альморекстанта гидрохлорида (15 мг/мл). Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием однофакторного и двухфакторного дисперсионного анализа с пост-хок тестом Сидак.

Результаты и обсуждение. Нокаут дофаминового транспортера оказывает значимое влияние на количество закопанных шариков ($p=0.0366$). Крысы DAT-KO закапывали большее количество шариков по сравнению с WT ($p=0.0293$). SB-408124 достоверно снижал количество закопанных шариков в группе дикого типа ($p=0.0004$) и нокаута ($p=0.0004$) по сравнению с базовым уровнем. Альморексант также достоверно снижал количество закопанных шариков ($p<0.0001$) в группах WT и DAT-KO, что подтверждалось по результатам пост-хок анализа (WT: $p=0.0031$; DAT-KO: $p=0.0003$).

Вывод. Крысы DAT-KO демонстрируют повышенный уровень компульсивности по сравнению с WT. Введение OX1R-антагониста и двойного OX1/OX2R-антагониста снижает количество закопанных шариков в группах DAT-KO и WT, но не DAT-HET, что может отражать нелинейную связь между уровнем экспрессии DAT и чувствительностью дофаминергической системы к модуляции антагонистами орексина.

* * *

РОЛЬ БЕЛКОВЫХ КОМПОНЕНТОВ СМЕШАННОЙ СЛЮНЫ В РЕАЛИЗАЦИИ ЗАЩИТНЫХ МЕХАНИЗМОВ

Сухарева М.С., Владимирова Е.В.
Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Смешанная слюна служит ключевым защитным барьером ротовой полости, ограничивая инвазию патогенов. При этом ряд её защитных компонентов остаётся недостаточно изученным. Работа посвящена исследованию роли катионных пролинбогатых пептидов (ПБП) в механизмах локальной защиты, в том числе во взаимодействии с факторами врождённого иммунитета. В эксперименте использовали синтезированные ПБП слюны человека и два ПБП слюны домашней свиньи. Установлено, что сами по себе ПБП не проявляют сильной антимикробной активности, но усиливают действие кателицидина, лактоферрина и лизоцима. Кроме того, ПБП препятствуют образованию бактериальных биоплёнок и потенцируют антибиоплёночную активность кателицидина и лактоферрина. Также выявлено статистически значимое ускорение заживления ран при применении комбинаций компонентов протеома слюны. Полученные данные расширяют представление о кооперации пептиднобелковых факторов слюны в защите от инфекций и саногенезе.

Ротовая полость выступает в качестве первичного защитного барьера, ограничивающего инвазию патогенных микроорганизмов в циркулирующие ткани и внутренние органы организма. Ключевую роль в локальной защите полости рта от инфекционных агентов играет слюна, содержащая широкий спектр белков и пептидов, обладающих антимикробными и иными биологическими свойствами. Протеомные исследования позволили идентифицировать в слюне человека более 3000 различных белков [1], включая высокомолекулярные (гликопротеины, пролинбогатые белки) и низкомолекулярные соединения (лизоцим, гистатины). Пролинбогатые белки, концентрация которых варьирует в диапазоне 0,5–4 мг/мл и может достигать 70 % от общего содержания белка в околоушной слюне [2,3], представляют особый интерес как потенциальные биомаркеры состояния здоровья, несмотря на недостаточную изученность их функций.

Цель. Изучение функциональной роли катионных пролинбогатых пептидов в защитных реакциях ротовой полости, включая их взаимодействие с компонентами системы врождённого иммунитета (белками и пептидами).

Материалы и методы. В рамках исследования проводился анализ пролинбогатых фрагментов белков слюны человека. Объектами изучения выступили химически синтезированные катионные пролинбогатые пептиды (ПБП), типичные для смешанной слюны человека. Методом компьютерного скрининга, реализованного на базе алгоритма, описанного в работе Trindade et al. [4], осуществляли отбор пептидных последовательностей с потенциально выраженной антимикробной активностью. Синтез целевых пептидов — PF (43–61), PH (37–51), IB6 (98–116) и p1932 — выполняли с использованием автоматического пептидного синтезатора Symphony X (Protein Technologies, Inc., США) в отделе общей патологии и патологической физиологии.

В ходе сравнительного анализа дополнительно исследовали два ПБП из слюны домашней свиньи, а также ряд антимикробных пептидов и белков: кателицидин LL37, гистатин 5, лизоцим, лактоферрин и протегрин 1.

Результаты. Методом серийных разведений в жидкой питательной среде была оценена антибактериальная активность ряда катионных пролинбогатых пептидов. Установлено, что синтезированные пептиды, полученные на основе белков смешанной слюны человека, а также пептиды слюны домашней свиньи - SP-B и SP-E, характеризуются низкой либо отсутствующей активностью в отношении типичных представителей микрофлоры полости рта.

Вместе с тем продемонстрировано усиление противомикробного действия компонентов системы врождённого иммунитета при совместном применении с пролинбогатыми пептидами — зафиксированы синергические эффекты. Так, комбинированное использование отдельных пролинбогатых пептидов с антимикробными пептидами или гистатином 5 приводило к повышению эффективности подавления роста ряда бактериальных штаммов. Аналогичный эффект наблюдался при сочетании некоторых пролинбогатых пептидов с лизоцимом и лактоферрином — отмечалось возрастание их антимикробной активности в отношении определённых микроорганизмов.

Кроме того, выявлено усиление действия кателицидина (в том числе кателицидина свиньи — протегрина 1) в присутствии пролинбогатых пептидов, в том числе в отношении некоторых грибковых агентов.

Дополнительно проведена оценка влияния катионных пролинбогатых пептидов на формирование бактериальных биоплёнок. Результаты показали, что совместное применение пролинбогатых катионных пептидов, кателицидина LL37 и лактоферрина человека обеспечивает более выраженное ингибирование формирования биоплёнок по сравнению с использованием этих соединений по отдельности.

Исследования также продемонстрировали статистически значимое ускорение заживления ран при применении комбинаций компонентов протеома слюны (пролинбогатых белков и антимикробных пептидов) по сравнению с контрольной группой. Полученные данные позволяют предположить участие этих компонентов в процессах регенерации тканей.

Выводы. Таким образом, результаты исследования подчёркивают перспективность сочетанного применения пролинбогатых пептидов и компонентов врождённого иммунитета для профилактики биоплёнкоассоциированных инфекций в полости рта, а также указывают на их потенциальную роль в модуляции репаративных процессов.

Также полученные данные расширяют понимание роли белковопептидного комплекса слюны в саногенезе и обосновывают перспективность разработки на его основе средств для профилактики и лечения стоматологических инфекций.

Список литературы:

1. *Amado, F. M. L., Ferreira, R. P. & Vitorino, R. One decade of salivary proteomics: Current approaches and outstanding challenges. Clin. Biochem, 2013, no. 46, pp. 506–517.*
2. *Gruden, Š., & Poklar Ulrih, N. (2021). Diverse Mechanisms of Antimicrobial Activities of Lactoferrins, Lactoferricins, and Other Lactoferrin-Derived Peptides. International journal of molecular sciences, 2021, Vol.22, no.20, 11264. https://doi.org/10.3390/ijms222011264.*

3. *Вавилова Т. П., Медведев А. Е. Биологическая химия. Биохимия полости рта. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. С. 193-196. [Vavilova T. P., Medvedev A. E. Biological Chemistry. Oral Biochemistry]. Moscow: GEOTAR-Media, 2016. pp. 193-196.*
4. *Trindade F., Amado F., da Costa J.P., Ferreira R., Maia C., Henriques I., Colaço B., Vitorino R. Salivary peptidomic as a tool to disclose new potential antimicrobial peptides. J. Proteomics, 2015,Vol. 115, P. 49-57. doi: 10.1016/j.jprot.2014.12.004.*

✷ ✷ ✷

ПРИМЕНЕНИЕ ОБОГАЩЁННОГО ТРОМБОЦИТАМИ ФИБРИНА (PRF) В РЕГЕНЕРАЦИИ ПАРОДОНТАЛЬНЫХ И ПЕРИИМПЛАНТАТНЫХ МЯГКИХ ТКАНЕЙ

Тулаганова С.Б.
Ташкентский государственный медицинский университет, Ташкент, Узбекистан

Актуальность. Несмотря на широкое применение дентальных имплантатов в современной стоматологии, их долгосрочный успех зависит не только от остеоинтеграции, но и от стабильности периимплантатных мягких тканей. При недостаточной толщине десны и отсутствии достаточного количества кератинизированных тканей повышается риск развития периимплантатного мукозита и периимплантита, ухудшаются эстетические результаты. Традиционные методы лечения (аутогенные соединительнотканные трансплантаты, коллагеновые мембраны) демонстрируют высокую эффективность, но требуют забора тканей из донорских зон, что приводит к дополнительной боли и дискомфорту у пациента. В связи с этим актуальным остаётся применение минимально инвазивных, биологически активных и аутологичных материалов. PRF (Platelet-Rich Fibrin) — биоматериал, получаемый из собственной крови пациента и обогащённый факторами роста, широко применяется для регенерации периимплантатных мягких тканей.

Цель. Оценить роль факторов роста, содержащихся в PRF, в регенерации периимплантатных мягких тканей, их влияние на ангиогенез и эпителизацию, определить клиническую эффективность и провести сравнение с традиционными методами лечения.

Результаты и обсуждение. Установлено, что PRF содержит биологически активные молекулы — PDGF, VEGF, TGF-β, IGF, которые стимулируют пролиферацию фибробластов, синтез коллагена и неоваскуляризацию. Мембрана PRF постепенно деградирует, высвобождая факторы роста в течение 7–14 дней, что ускоряет процесс заживления после операции. Клинические наблюдения показали, что применение PRF способствует:

- Увеличению толщины десны и площади кератинизированных тканей,
- Более быстрой эпителизации,
- Снижению показателей воспаления в периимплантатной области,
- Улучшению эстетических результатов.

Полученные результаты подтверждают эффективность PRF как биоматериала для восстановления периимплантатных мягких тканей. Его основные преимущества — аутологичность, биосовместимость и доступность. Постепенное высвобождение факторов роста способствует поддержанию долгосрочных регенерационных процессов в зоне имплантата.

Различные модификации PRF оказывают неодинаковое влияние на регенерацию:

- L-PRF — более богат иммунными клетками, обладает выраженным противовоспалительным эффектом.
- A-PRF — оптимален для стимуляции ангиогенеза и заживления мягких тканей.
- i-PRF — инъекционная форма, значительно усиливает образование новых сосудов в периимплантатной области.

Тем не менее эффективность PRF зависит от возраста пациента, качества крови и общего регенерационного потенциала организма. В ряде случаев применение PRF в

сочетании с коллагеновыми мембранами или костными трансплантатами обеспечивает более высокие клинические результаты.

Выводы. PRF зарекомендовал себя как эффективное биологическое средство для регенерации периимплантатных мягких тканей. Он усиливает ангиогенез, ускоряет эпителизацию и улучшает эстетические результаты. Благодаря своей аутологичности и биосовместимости PRF может рассматриваться как альтернатива или дополнение к традиционным методам трансплантации. Будущие масштабные клинические исследования позволят точнее определить место PRF в протоколах дентальной имплантологии.

✶ ✶ ✶

ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ФОТОДИНАМИЧЕСКИ-ИНДУЦИРУЕМОЙ ГИБЕЛИ КЛЕТОК ГЛИОМ ЧЕЛОВЕКА КАК ОСНОВЫ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ИММУНОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ

Турубанова В.Д.[1,2], Слепцова Е.Е.[1], Хузина А.Р.[1], Редькин Т.С.[1], Куликов С.С.[1,2], Клапшина Л.Г.[3], Балалаева И.В.[2], Южакова Д.В.[4]

[1]Университет «Сириус»,
[2]ННГУ им. Н.И. Лобачевского,
Сочи,
[3]Институт металлоорганической химии имени Г.А. Разуваева РАН,
[4]НИИ БМТ ПИМУ,
Нижний Новгород

Актуальность. Глиобластома является наиболее распространенной первичной злокачественной опухолью центральной нервной системы, при этом медиана общей выживаемости пациентов варьирует в пределах 12–15 месяцев, а эффективность существующих терапевтических протоколов остается крайне ограниченной. В этой связи значительный научный интерес представляют иммунотерапевтические стратегии, нацеленные на модуляцию иммуносупрессивного микроокружения глиом, характеризующегося фенотипическим профилем «холодной» опухоли, и обеспечивающие полиспецифическое распознавание широкого репертуара опухолеассоциированных антигенов.

Материалы и методы. Фотодинамическая терапия (ФДТ) способна запускать иммуногенную клеточную смерть (ICD), которая может быть основой иммунотерапевтических подходов с использованием дендритных клеток человека. Однако молекулярные механизмы, лежащие в основе фотоиндуцированной гибели человеческих клеток глиом, раскрыты недостаточно. Начав с изучения мышиных моделей, мы перешли к этапу трансляции результатов на клинический уровень, сосредоточив усилия на первичных культурах, полученных из глиом человека.

Результаты и обсуждение. Экспериментальная часть работы выполнена на первичных культурах клеток, полученных из высокозлокачественных глиом человека. В качестве фотосенсибилизирующего агента применяли тетра(арил)тетрацианопорфиразин, а источником фотонного облучения служил оригинальный диодный излучатель с постоянной длиной волны 630-650 нм. Параметры фотодинамического воздействия были стандартизированы во всех экспериментах и соответствовали дозе 20 Дж/см^2.

Выводы. В представленной работе мы оценили динамику аккумуляции и внутриклеточное распределение фотосенсибилизатора порфиразина III в первичных культурах разного гистогенеза (астроцитомы, олигодендроглиомы и глиобластомы) и определили характер вызываемой ими клеточной смерти. Было показано, что субклеточная локализация препарата не зависит от типа опухоли, но для всех культур выявлен узкий концентрационный диапазон, обеспечивающий регулируемую гибель на уровне IC85. ФДТ

преимущественно запускает ферроптоз, хотя в процесс вовлечены также апоптоз и некроптоз, что сопровождается всплеском супероксидных анионов и нарушением работы митохондрий. Поскольку все три указанных типа гибели потенциально иммуногенны, есть основания полагать, что применение порфиразина III при ФДТ глиом способно стимулировать развитие ICD.

Исследование проведено с использованием денежных средств гранта Российского научного фонда (грант РНФ № 24-75-10060, https://rscf.ru/project/24-75-10060/).

✶ ✶ ✶

ПЕРЕКРЕСТНАЯ СЕНСИБИЛИЗАЦИЯ СЕЗОННОГО АЛЛЕРГИЧЕСКОГО РИНИТА У ДЕТЕЙ

Тухтаева О.Т.
Ташкентский государственный медицинский университет, Туркистан, Узбекистан

Актуальность. Аллергический ринит - заболевание слизистой оболочки носа, основой которого является аллергическое воспаление, вызываемое причинно-значимыми аллергенами. Сезонный аллергический ринит. Наиболее распространенная форма. Обычно манифестирует в молодом возрасте. Симптомы болезни появляются в определенное время года и чаще всего обусловлены контактом с пыльцой определенных растений.

По данным ВОЗ, в настоящее время аллергические заболевания занимают одно из ведущих мест в структуре заболеваемости. Частота аллергических болезней стремительно растет - каждые 10 лет увеличиваясь на 10%, и сегодня в мире до половины населения страдает различными аллергическими заболеваниями. Перекрестная аллергия — это реакция организма на схожие по антигенному составу аллергены. По статистике, у 50% пациентов с аллергическим заболеваниями есть повышенная чувствительность и к продуктам питания. Для возникновения перекрестной аллергической реакции достаточно, чтобы аллергены разного происхождения совпадали на 70 %.

Цель исследования. Изучение перекрестной сенсибилизации у детей

Материалы и методы. Обследовано 122 больных детей, из которых 62 пациентов с сезонным аллергическим ринитом и 60 пациента с поллинозом и пищевой аллергией в возрасте 7-18 лет. Специфическое аллергологическое исследования включило в себя изучение аллергоанамнеза, проведения кожного тестирования с диагностическими стандартизированными экстрактами пыльцевых аллергенов, количественное определения аллерген-специфических IgE в сыворотке крови из панели к 20 наиболее часто встречающимся в Узбекистане ингаляционным, пищевым аллергенам методом иммуноферментного анализа (ИФА) специфических IgE.

Результаты и их обсуждение. У всех пациентов, включенных в исследование, доказан IgE - зависимый механизм заболевания и выявлена пыльцевая и пищевая сенсибилизация. Концентрация общего IgE у пациентов с аллергическим ринитом составляла 173,0 МЕ/мл - у пациентов в сочетании аллергического ринита и пищевой аллергии и была достоверно выше здоровых (36.4,7МЕ/мл). Результаты наших наблюдений показали, что у детей с поллинозами часто встречается сенсибилизацией к семейству сложноцветных полыни (60,2 %) и подсолнечнику (53.4%). Сенсибилизация к пыльце сложноцветных характеризовалась чаще очень высокой (на 4+ по данным кожных проб) степенью, чем умеренной и слабой степенью ($p< 0,05$). Из семейства злаковых отмечалось высокий удельный вес к пыльце растений: костёр (52,5%), овсяницы (50,8%) и по интенсивности спектра, сенсибилизация выявлялась практически одинаково часто. Сенсибилизация к аллергенам пыльцы семейства маревых-лебеде отмечена лишь 35.6% случаев со средней и умеренной степенью интенсивности кожных проявлений. Частота выявления положительных результатов IgEаллергенспецифических антител на овощи и фрукты: наибольший удельный вес отмечен на семейство розоцветных (38,2%):

клубника (16,4%), персик (11,6%) и яблоко (10,2%); на семейство тыквенных (24,5%): арбуз (12,9%) и дыня (11,6%); на семейство пасленовых (27,2%): томат (16,3%) и баклажан (10,9%); на семейство злаковых (10,1%).

Вывод. Таким образом в формирование перекрёстной сенсибилизации у больных с поллинозом происходит последовательная сенсибилизация сначала к различным видам пыльцевых аллергенов, последующим сенсибилизация к пищевым продуктом. В сенсибилизированном организме аллергическую реакцию может спровоцировать не только специфический аллерген, но и схожий по антигенному составу аллерген.

Выделения ведущих форм сенсибилизации при поллинозе у детей даёт возможность своевременно определить течение болезни и наметить этиопатогенетическое лечения этого заболевания.

* * *

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ МОЛЕКУЛ MICA/B И ULBPS ОПУХОЛЕВЫМИ КЛЕТКАМИ В ПРИСУТСТВИИ МЕТАБОЛИТОВ БАКТЕРИЙ

Тыщук Е.В.[1,2], Денисова Е.А.[1,2], Гребенкина П.В.[1,2], Сафина А.Р.[1], Моносов М.М.[1], Краева Л.А.[2], Соколов Д.И.[1,2]

[1]Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта,
[2]Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,
Санкт-Петербург

Молекулы MICA/B и ULBPs являются распространенными маркерами стресса и опухолевого перерождения клеток. Являясь лигандами рецептора NKG2D, они провоцируют активацию цитотоксичности NK-клеток. Клетки разного происхождения отличаются по представленности вариантов белков, а интенсивность их экспрессии регулируется в зависимости от воздействующих факторов. Являются ли продукты бактерий стимулом, регулирующим экспрессию молекул MICA/B и ULBPs клетками-мишенями, а также регулируют ли гибель мишеней в присутствии NKклеток, на данный момент изучено недостаточно.

Материалы и методы. В данном исследовании применяли опухолевые клетки-мишени трех линий (K-562, HeLa S3, JEG-3), а также NK-клетки линии NK-92. В качестве бактериальных продуктов (БП) использовали метаболиты, полученные от представителей бактерий группы ESKAPE: *A. baumannii (AB), E. cloacae (EC)* и *K. pneumoniae (KP)*. Клетки-мишени обрабатывали БП, после чего оценивали экспрессию ими молекул MICA/B и ULBPs, применяя моноклональные антитела с флуоресцентными метками, а также фиксировали гибель клеток в присутствии NKклеток. Исследования проводили с использованием проточного цитометра FACS Canto. Для статистической обработки применяли U-критерий Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение. В результате анализа было продемонстрировано, что все клетки-мишени обладают изучаемыми маркерами, однако экспрессируют их с разной интенсивностью. Клетки изменяют экспрессию изучаемых молекул под действием БП, при этом паттерны экспрессии разных молекул отличаются, в зависимости от клеточной линии. Отмечено повышение относительного количества (%) клеток линии K-562, несущих молекулы ULBPs и MICB при инкубации с БП от *EC* и *KP,* и снижение экспрессии MICA после инкубации с продуктами *KP.* Относительное количество клеток HeLa, несущих MICA, возрастало при инкубации с БП от *KP,* а несущих MICB – с БП всех бактерий. В отношении клеток линии JEG-3 было отмечено стимулирующее действие БП от *AB* на экспрессию ими MICB, при этом экспрессия ULBPs подавлялась при воздействии БП всех бактерий. Оценка цитотоксичности NK-клеток не выявила изменений в гибели клеток линий K-562 и HeLa, обработанных БП, тогда как в отношении клеток линии JEG-3, обработанных супернатантами от *AB* и *EC,* цитотоксичность NK-клеток была понижена.

Вывод. Таким образом, в данном исследовании было выявлено влияние БП на экспрессию клетками молекул MICA/B и ULBPs. Для дальнейшей оценки влияния БП на устойчивость мишеней к цитотоксичности NK-клеток необходимо рассмотреть дополнительные активирующие и ингибирующие лиганды.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ, грант № 24-15-00002

* * *

КИСЛОРОД-ПРОДУЦИРУЮЩИЕ АНТИГИПОКСАНТЫ, ГЕНЕРАТОРЫ МЕДИЦИНСКОГО ГАЗА КИСЛОРОДА И ГАЗОВЫЕ ВЗРЫВАТЕЛИ. ИСТОРИЯ РАЗРАБОТКИ ИХ В РОССИИ, РЕЗУЛЬТАТЫ ПЕРВЫХ ЭКСПЕРИМЕНТОВ ПЕРСПЕКТИВЫ А.Л. УРАКОВ, Н.А.УРАКОВА, П.Д. ШАБАНОВ

Ураков А.Л.[1], Уракова Н.А.[1], Шабанов П.Д.[2]
[1]Ижевский государственный медицинский университет, Ижевск,
[2]Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Актуальность. Наблюдаемая в экспериментальных и клинических условиях высокая эффективность ингаляционного кислорода при гипоксемии подтверждает, что газ кислород остается лекарственным препаратом номер один в медицине, поскольку остается лидером среди всех известных лекарств, применяющихся с целью предотвращения смерти во всех критических состояниях. Для предотвращения гипоксического повреждения клеток головного мозга газ кислород широко и успешно используется с помощью дыхательных масок, интубационных трубок и аппаратов, предназначенные для искусственной вентиляции легких и экстракорпоральной мембранной оксигенации. В то же время, традиционные способы оксигенации крови газом кислородом не годятся для оказания первой помощи пострадавшим при внезапной механической асфиксии (внезапной респираторной обструкции при COVUD-19, асфиксии кровью, гнойными, пищевыми или рвотными массами, меконием, бронхоспазме, ларингоспазме и термическом ожоге дыхательных путей), возникшей за пределами лечебных учреждений, а также при приступе удушья, развившемся в задымленном помещении при пожаре и отсутствии медицинских специалистов.

Особую актуальность имеет оказание первой помощи пострадавшим при удушье, развившемся в задымленном помещении при пожаре, поскольку в настоящее время отсутствует доступный индивидуальный переносной генератор кислорода. Дело в том, что отсутствие такого генератора кислорода оставляет людей в закрытом помещении без доступа кислорода, содержание которого в воздухе уменьшается из-за непрерывного потребления кислорода людьми. В этих условиях у людей уменьшается содержание кислорода в крови, что уменьшает доставку кислорода к головному мозгу и нарушает его функцию, поскольку головной мозг людей обладает низкой устойчивостью к гипоксии. Обычно у большинства нетренированных людей через 3 минуты нахождения в помещении с задымленным воздухом с приступом удушья резервы адаптации к гипоксии истощаются. Это ведет к тому, что люди теряют сознание, после чего они не могут покинуть помещение без посторонней помощи. Более длительный период гипоксемии вызывает у них гипоксическое повреждение клеток головного мозга необратимого характера, которое становится причиной их биологической смерти.

Следует подчеркнуть, что медицинские работники не в состоянии своевременно прибыть на место внезапно возникшего происшествия и оказать первую медицинскую

помощь пострадавшим, находящимся внутри закрытого помещения, наполненного воздухом с низким содержанием кислорода. В связи с этим своевременное устранение приступа удушья и предотвращение гипоксического повреждения клеток головного мозга у людей, оказавшихся в закрытом помещении, наполненном задымленным воздухом, в реальных условиях может быть достигнуто только с помощью оказания само- и взаимопомощи. Предполагается, что в этих условиях первая помощь пострадавшим может быть усовершенствована с помощью растворов кислород-продуцирующих антигипоксантов для внутрилегочных инъекций и/или одноразовых транспортируемых генератор кислорода. В частности, они могут быть использованы для оказания первой помощи при приступе удушья, развившемся в закрытом задымленном помещении, поскольку они могут своевременно устранить гипоксемию, сохранить сознание у пострадавших и обеспечить им самостоятельный выход из помещения.

Цель. Разработать растворы кислород-продуцирующих антигипоксантов, предназначенных для внутрилегочных, эндотрахеальных, эндобронхиальных инъекций, шприцы для внутрилегочных инъекций растворов, газированных кислородом при избыточном давлении, а также индивидуальные генераторы медицинского газа кислорода, обеспечивающие немедленную оксигенацию крови через легкие при оказании первой помощи пострадавшим в критических состояниях.

Материалы и методы. Лабораторные и экспериментальные исследования проведены in vitro с порциями крови сельскохозяйственных и экспериментальных животных, с изолированными порциями мокроты, слизи, серозной жидкости, гнойных масс пациентов, страдающих различными инфекционными заболеваниями и хроническими ранами, а также с порциями мекония и изолированными серными пробками пациентов и добровольцев, с изолированными легкими кроликов и овец, а также с бодрствующими беспородными кроликами. Клинические исследования проведены на авторах и соавторах изобретений.

Результаты и обсуждение. Качественные растворы 3-6%-ного пероксида водорода более 100 лет применяются в роли безрецептурных антисептиков-окислителей во всем мире холодными (при температуре +24 - +26 °С) и кислыми (при кислотной активности с pH менее 7,0). Однако начале XXI века фармакологи Ижевского государственного медицинского университета показали, что нагревание указанных растворов пероксида водорода до температуры +37 - +45 °С и защелачивание до pH 8,4 обеспечивает их перепрофилирование в кислород-продуцирующие антигипоксанты и кислородные газовые взрыватели, которые при местном применении вызывают моментальное кислородное вспенивание разноообразных коллоидных биологических тканей (RU 2360685, 10.07.2009; RU 2468776, 27.06.2012; RU 2538662, 10.01.2015; RU 2563151, 20.09.2015). С целью эффективного и безопасного защелачивания растворов пероксида водорода до pH 8,4 было рекомендовано дополнить его бикарбонатом натрия.

Указанное нагревание и защелачивание растворов пероксида водорода легло в основу его физико-химического перепрофилирования из «старого» (известного) лекарства (антисептика) в новые лекарства. В частности, были разработаны такие новые группы лекарственных препаратов, как пиолитики, отбеливатели кровоподтеков, кислород-высвобождающие антигипоксанты, газовые взрыватели и генераторы медицинского газа кислорода. В настоящее время они объединены в одну фармакологическую группу под названием “теплые щелочные растворы пероксида водорода”.

Выяснено, что щелочная активность раствора пероксида водорода обеспечивает ему омыляющее действие на липидные и белково-липидные комплексы, составляющие основу биологических коллоидных масс, а нагревание расплавляет их и в соответствии с законом Аррениуса ускоряет и усиливает щелочное омыляющее действие. Одновременно с этим умеренная щелочность и гипертермия усиливают расщепление пероксида водорода на воду и газ кислород под действием фермента каталазы, которая всегда присутствует в биологических тканях (мокрота, слизь, серозная жидкость, гнойные массы, кровь, пятна крови сгустки крови, меконий и др.).

Лабораторные исследования и химические расчеты показали, что 100 мл теплого щелочного раствора 6% пероксида водорода могут выделить почти 2 литра газа кислорода через 1 минуту после начала взаимодействия с биологической массой, содержащей фермент каталазу, или с металлическим катализатором.

Катализатором проводимых нами исследований явился профессор Петр Дмитриевич Шабанов, заведующий отделом фармакологии имени академика С.В. Аничкова Института экспериментальной медицины. Его участие существенно оптимизировало проводимую разработку. Совместные экспериментальные исследования подтвердили, что теплые щелочные растворы пероксида водорода представляют собой эффективные кислород-продуцирующие антигипоксанты, которые успешно могут быть использованы для немедленной оксигенации крови кислородом через легкие при различных видах механической асфиксии в различных экстремальных условиях, включая военно-полевые условия

В частности, однократная внутрилегочная, эндотрахеальная и/или эндобронхиальная инъекция 1-5 мл теплого щелочного раствора 0,1-3% пероксида водорода обеспечивает немедленную замену мокроты, слизи, серозной жидкости, гноя, мекония и/или крови на кислородную пену белого цвета в дыхательных путях при их тотальной обструкции. Показано, что этот кислород-продуцирующий эффект в дыхательных путях не отделим от пиолитического, муколитического и гемолитического эффектов. Он проявляется бурным образованием пузырьков газа кислорода, формирующим процесс холодного кипения, вспенивания коллоидных масс, увеличения объема пены, заполнения пеной всех дыхательных путей, раздувания и увеличения объема легких, выталкивания пены наружу из верхних дыхательных путей и увеличения оксигенации крови.

Так, тотальная асфиксия кровью и/или искусственной мокротой снижала показатель оксигенации крови у беспородных кроликов через 3 минуты до 45-50%, а через 7-10 секунд после однократной внутрилегочной инъекции 2 – 5 мл теплого щелочного раствора пероксида водорода оксигенация крови увеличивалась до 90-95%. Причем, гипоксемия отсутствовала в течение нескольких минут при полном отсутствии дыхательных движений грудной клетки у животных.

Разработанные технические решения легли в основу следующих изобретений: RU 2735502, 03.11.2020; RU 2742505, 08.02.2021; RU 280785, 21.11.2023; RU 2831821, 16.12.2024; RU 2833321, 17.01.2025; Патентная заявка RU 2024108858 от 01.04.2024, а также некоторых других.

Кроме этого, полученные результаты легли в основу разработки первого в мире индивидуального одноразового генератора кислорода, предназначенного для оказания первой помощи. Сущность этого генератора, выполненного с корпусом из термоформируемой пленки в форме герметично закрытого прямоугольной формы пакета,

снабженного патрубком для вдыхания кислорода из полости пакета и соединенным на противоположном конце с маской для дыхания, с размещенным в полости корпуса россыпью сухим реагентом и внутренним полиэтиленовым пакетом, заполненным жидкостью, и обеспечивающего инициацию взаимодействия сухого реагента с жидкостью внутри полости корпуса путем удара ладонью по нему после его размещения на твердую поверхность с целью разрыва внутреннего пакета с жидкостью непосредственно перед оказанием помощи, заключается в том, что корпус выполнен в виде вакуумной упаковки из прозрачной бесцветной гофрированной пленки с возможностью увеличения объема его полости в процессе генерации 1,6 л газа кислорода, патрубок выполнен из гофрированной эластичной трубки, снабжен за пределами корпуса фильтром дыхательным тепловлагообменным и пережат зажимом пружинящим «Мора», в качестве сухого реагента используют 10 г порошка сульфата железа, в качестве жидкости используют 100 мл 6% раствора пероксида водорода (Заявка на выдачу патента на изобретение 2026113776 от 04.05.2026).

Вывод. Фармакологи России являются лидерами в разработке кислород-продуцирующих антигипоксантов и генераторов медицинского газа кислорода, предназначенных для оказания первой помощи пострадавшим в критических состояниях, возникших внезапно в экстремальных условиях.

* * *

ОТДАЛЕННЫЕ ПОСЛЕДСТВИЯ ВЛИЯНИЯ ДЛИТЕЛЬНОГО ЭМОЦИОНАЛЬНО-БОЛЕВОГО СТРЕССА НА УРОВЕНЬ ТРЕВОЖНОСТИ САМЦОВ И САМОК КРЫС С КОНТРАСТНОЙ ВОЗБУДИМОСТЬЮ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Фалеева В.С.
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН,
Санкт-Петербург

Проблема хронического стресса широко изучается в связи с его влиянием на функциональное состояние нервной системы и поведение. Особое значение имеет изучение половых особенностей изменений, сохраняющихся после прекращения действия стрессора. Целью исследования было изучение влияния длительного эмоционально-болевого стресса (ДЭБС) на уровень тревожности у самцов и самок крыс с разным типом возбудимости нервной системы в отдалённый период после воздействия стресса.

Материалы и методы. Исследование выполнено на взрослых самцах и самках двух линий крыс, селектированных по величине порога нервно-мышечной возбудимости: ВП (высокий порог) и НП (низкий порог) (Биоколлекция ФГБУН Института физиологии им. И.П. Павлова РАН, №ГЗ 0134-2018-0003). В эксперименте участвовали 46 животных, разделённых на четыре группы: ВП контроль, ВП стресс, НП контроль и НП стресс (n=5–6). ДЭБС проводили по стохастической схеме К. Гехта (Hecht, 1972). Через 60 суток после окончания ДЭБС поведение оценивали в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт». Стадию эстрального цикла определяли по вагинальным мазкам у самок.

Результаты. Установлено, что у самцов крыс обоих линий снижалось количество выходов в центр, число переходов между рукавами, количество стоек с опорой и выглядываний вниз, увеличивалось количество фекальных болюсов и продолжительность замирания. У самцов крыс линии ВП наблюдалось увеличение латентности захода в закрытый рукав, а у самцов крыс линии НП — уменьшение времени пребывания в центре, а также времени в открытых рукавах, с одновременным увеличением времени в закрытых рукавах. У самок крыс обоих линий снижалась латентность захода в закрытый рукав, число вертикальных стоек с опорой, возрастало число фекальных болюсов. У самок крыс линии ВП наблюдалось снижение числа переходов между рукавами, время пребывания в центре, увеличивалась продолжительность замирания и количество мочеиспусканий.

Выводы. Таким образом, через 60 суток после ДЭБС у крыс обоих полов выявлены признаки тревожноподобного поведения, сопровождавшиеся снижением исследовательской активности. У самцов данные изменения были более выражены и сочетались со значительным снижением двигательной активности. У самок изменения двигательной активности носили менее выраженный характер и преимущественно отмечались у линии ВП. Полученные результаты могут свидетельствовать о половых особенностях формирования отдалённых последствий стресса.

Финансирование работы: государственное задание ФГБУН Института физиологии им. И.П.Павлова РАН (№ 1021062411629-7-3.1.4).

* * *

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КИШЕЧНОГО МИКРОБИОМА И ИММУННОЙ СИСТЕМЫ В ОБЕСПЕЧЕНИИ ГОМЕОСТАЗА

Хаджаева Д.Х.[1], Ахрорходжаев К.А.[2]

[1]Ташкентский государственный медицинский университет, Телов, Узбекистан,
[2]Profi University, Ташкент, Узбекистан

Иммунный гомеостаз как фундаментальный вызов медицине XXI века неразрывно связан с состоянием микробиома. Нерациональное питание и агрессивная антибиотикотерапия привело к антибиотикорезистентности и стали толчком к глобальному росту дисбиотических состояний и утрате иммунной толерантности. Особую опасность представляет потеря микробного разнообразия в раннем онтогенезе, так как эффективность «обучения» иммунной системы при этом неуклонно снижается. По данным ВОЗ и MDPI, ежегодно миллионы людей страдают от патологий, вызванных нарушением барьерных функций. Прогнозируется, что к 2050 году смертность от заболеваний, ассоциированных с хроническим системным воспалением, достигнет критических отметок, превысив показатели многих инфекций. В контексте современной иммунологии десинхронизация оси «микробиота-хозяин» делает организм уязвимым, значительно увеличивая летальность и мировые экономические издержки, достигающие 3,5% глобального ВВП

Цель. Проанализировать механизмы взаимодействия симбионтной микрофлоры с клетками иммунитета и оценить терапевтический потенциал бактериальных метаболитов в поддержании системного гомеостаза.

Материалы и методы. Материалам для тезиса послужили научные статьи, монографии, учебные пособия и публикации последних лет, выпущенные в США.

Результаты. Научные данные показывают, что дефицит нормальной флоры уже через короткие промежутки времени приводит к срыву механизмов толерантности. Сегодня ключевой проблемой остаётся снижение уровня короткоцепочечных жирных кислот (SCFA), регулирующих Т-регуляторные клетки. Основными факторами потери иммунного контроля являются нарушение микробного пейзажа кишечника и дефекты эпителиального барьера. Перспективным решением выступает стимуляция выработки антимикробных пептидов (АМП), таких как дефензины и кателицидины. Исследования доказывают, что данные молекулы под контролем микрофлоры способствуют активной реэпителизации тканей. В отличие от искусственных стимуляторов, естественные пептиды физически укрепляют барьер и модулируют врожденный ответ, что делает практически невозможным развитие хронического нейровоспаления и патологий типа болезни Альцгеймера.

Выводы. Иммунный гомеостаз является результатом сложного симбиоза, усиленного метаболической активностью микрофлоры. Поддержание системного здоровья возможно лишь при сохранении микробного разнообразия и интеграции в практику методов персонализированной коррекции микробиома.

РОЛЬ МИКРОБИОМА КИШЕЧНИКА В ПАТОГЕНЕЗЕ И ТЕРАПИИ ГЛОБАЛЬНЫХ ПАНДЕМИЙ: ОТ COVID-19 ДО АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ

Хаджаева Д.Х.[1], Ахрорходжаев К.А.[2]

[1]Ташкентский государственный медицинский университет, Телов, Узбекистан,
[2]Profi University, Ташкент, Узбекистан

Актуальность. Микробиом кишечника — это сложная экосистема микроорганизмов, населяющих желудочно-кишечный тракт человека. По данным исследований, общее количество микробных клеток в кишечнике сопоставимо с числом клеток человеческого организма. Основную часть микробиоты составляют представители родов Bacteroides, Firmicutes, Actinobacteria и Proteobacteria. Их соотношение индивидуально и зависит от возраста, питания, окружающей среды и состояния здоровья.

Цель. Определить влияние микробиома кишечника на развитие, течение и исход глобальных инфекционных заболеваний, включая COVID-19, а также изучить его потенциал в профилактике и терапии инфекций, связанных с антибиотикорезистентностью

Материалы и методы. Методы исследования включали: Аналитический метод — изучение и сопоставление научных источников по теме микробиома и глобальных инфекций. Сравнительный анализ — оценка различий микробиоты у здоровых лиц и пациентов с COVID-19 и другими инфекциями. Метод систематизации — обобщение полученных данных для выявления взаимосвязи между состоянием кишечного микробиома и развитием антибиотикорезистентности.

Результаты и обсуждения. Анализ научных данных показал, что микробиом кишечника играет ключевую роль в функционировании иммунной системы и определяет степень восприимчивости организма к инфекционным заболеваниям. Установлено, что у пациентов с тяжёлым течением COVID-19 наблюдается выраженный дисбаланс кишечной микробиоты — снижение количества полезных бактерий (Bifidobacterium, Lactobacillus) и увеличение условно-патогенных видов (Enterococcus, Clostridium difficile). Это подтверждает участие микробиома в механизмах системного воспалительного ответа и иммунной дисрегуляции при коронавирусной инфекции. Избыточное и неконтролируемое использование антибиотиков нарушает микробное равновесие, способствуя распространению устойчивых штаммов бактерий. Восстановление нормального микробиома после антибиотикотерапии рассматривается как один из способов профилактики устойчивости к антибактериальным препаратам.

Выводы. Таким образом, микробиом кишечника играет ключевую роль в регуляции иммунного ответа и устойчивости организма к инфекциям. Дисбиоз способствует тяжёлому течению COVID-19 и распространению антибиотикорезистентности. Коррекция микробиоты с помощью пробиотиков и рационального питания является перспективным направлением профилактики и терапии глобальных инфекционных заболеваний.

КОРОТКОЦЕПОЧЕЧНЫЕ ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ КАК МЕДИАТОРЫ ИММУНОМЕТАБОЛИЧЕСКОГО ГОМЕОСТАЗА: РОЛЬ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ

Холкузиева Р.Х., Серебряков В.В.
Ташкентский государственный медицинский университет, Ташкент, Узбекистан

Кишечная микробиота представляет собой сложную экосистему микроорганизмов, участвующую в поддержании гомеостаза и взаимодействующую с метаболической, иммунной и нервной системами. Одним из ключевых механизмов этих взаимодействий является образование микробных метаболитов, среди которых особое значение имеют короткоцепочечные жирные кислоты (КЖК) — ацетат, пропионат и бутират. Они участвуют в регуляции энергетического обмена, поддержании кишечного барьера и иммунного ответа. Особый интерес представляет иммунометаболическая роль КЖК, поскольку изменение состава и функциональной активности микробиоты может сопровождаться нарушением их продукции и иммунного гомеостаза. Поэтому изучение механизмов, связывающих метаболическую активность микробиоты с иммунной регуляцией, актуально для современной экспериментальной медицины.

Исследование выполнено в формате аналитического обзора научных данных о функциональной активности кишечной микробиоты и роли КЖК в поддержании иммунометаболического гомеостаза. Проанализированы метаболические эффекты ацетата, пропионата и бутирата, их участие в регуляции кишечного барьера и иммунного ответа, а также взаимосвязь изменений микробного состава с продукцией КЖК и провоспалительными и противовоспалительными механизмами.

Анализ литературы показал, что КЖК являются важным звеном, связывающим метаболическую активность микробиоты с иммунной регуляцией. В физиологических условиях ацетат, пропионат и бутират участвуют в энергетическом обмене и поддержании иммунного гомеостаза. Бутират имеет особое значение для энергетического обеспечения клеток кишечного эпителия, сохранения барьерной функции и противовоспалительной регуляции. При нарушении микробного равновесия отмечается снижение продукции КЖК, особенно бутирата, что может сопровождаться нарушением кишечного барьера, изменением иммунного профиля и усилением провоспалительных процессов, включая повышение активности IL-6 и TNF-α. Таким образом, изменение продукции КЖК является одним из механизмов, посредством которых дисбиоз может отражаться на иммунометаболическом гомеостазе.

Короткоцепочечные жирные кислоты представляют собой важное функциональное звено взаимодействия кишечной микробиоты с организмом. Их участие в поддержании кишечного барьера, энергетическом обмене и иммунной регуляции позволяет рассматривать КЖК как перспективные маркеры функционального состояния микробиоты и потенциальные мишени для профилактических и терапевтических подходов.

* * *

ОЦЕНКА ШТАММА *S. PYOGENES* GURSA1 КАК ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ОНКОЛИТИЧЕСКОГО АГЕНТА: ДОЗОЗАВИСИМЫЙ ЭФФЕКТ И ПРОФИЛЬ БЕЗОПАСНОСТИ НА МОДЕЛИ ПАНКРЕАТИЧЕСКОЙ АДЕНОКАРЦИНОМЫ

Цапиева А.Н.[1], Дуплик Н.В.[1], Морозова А.О.[1], Филатенкова Т.А.[1], Каранина В.Д.[2], Егидарова Е.Ю.[1], Суворов А.Н.[1]

[1]Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург,
[2]НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», Ленинградская область, г.п. Кузьмоловский

Актуальность. Рак поджелудочной железы остается одной из наиболее летальных злокачественных опухолей, а ограниченность терапевтических опций диктует потребность в поиске альтернативных подходов, одним из которых является бактериальная онколитическая терапия.

Материалы и методы. В работе исследован аттенуированный штамм *Streptococcus pyogenes* GURSA1 с нокаутом гена, кодирующего Мбелок — ключевой фактор патогенности, определяющий устойчивость к фагоцитозу и маскировку от иммунной системы. Противоопухолевый потенциал штамма оценивали на модели ортотопической трансплантации аденокарциномы поджелудочной железы у самок мышей линии C57Bl/6. Штамм вводили внутриопухолево в двух дозах: 5×10^5 и 1×10^6 КОЕ на животное. В ходе эксперимента контролировали динамику массы тела, выживаемость, приживление опухоли, объем и массу опухолевого узла, интенсивность метастазирования, а также гематологические, биохимические, гистологические и микробиологические параметры.

Результаты и обсуждение. Установлен дозозависимый эффект штамма GURSA1 в отношении опухолевой нагрузки и метастатического поражения. Наиболее выраженные изменения зарегистрированы при дозе 1×10^6 КОЕ: отмечено снижение приживления опухоли, уменьшение суммарного балла метастазирования и частоты геморрагического асцита, а также достоверное снижение массы и объема опухоли. При этом статистически значимого увеличения общей выживаемости не зафиксировано. С точки зрения микробиологической и физиологической безопасности, терапия не провоцировала развитие тяжелых системных нарушений. Отмечены отдельные благоприятные биохимические и гематологические сдвиги: повышение числа тромбоцитов, снижение уровней мочевины и АЛТ до значений, близких к показателям интактных животных. На фоне лечения не выявлено влияния на анемию и нейтрофилию; уровни АСТ, щелочной фосфатазы, глюкозы и общего белка оставались стабильными.

Выводы. Полученные данные подтверждают способность штамма GURSA1 снижать первичную опухолевую нагрузку и ограничивать метастатическое распространение в условиях *in vivo*. Учитывая аттенуацию за счет удаления Мбелка и благоприятный профиль биохимических показателей, штамм представляет интерес как кандидат для дальнейшей разработки в качестве онколитического агента. Перспективными направлениями являются изучение механизмов селективной колонизации опухолевой ткани, иммуномодулирующего действия штамма и оптимизация схемы введения для достижения значимого эффекта по выживаемости.

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ГИППОКАМПА У САМОК КРЫС, ПЕРЕЖИВШИХ ВИТАЛЬНЫЙ СТРЕСС

Частикова А.Е., Апраксина Н.К., Безнин Г.В., Коржевский Д.Э., Цикунов С.Г.

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Витальный стресс является этиологическим фактором посттравматического стрессового расстройства (ПТСР).Гиппокамп – является частью лимбической системы головного мозга, вовлечённой в формирование памяти, контекстуальной обработке страха и регуляции ГГНС [1]. В патогенезе ПТСР гиппокамп, наряду с префронтальной корой и миндалиной, играет центральную роль: его объём достоверно снижен у пациентов с ПТСР [2]. В связи с более высокой распространённостью ПТСР среди женщин [3] и недостаточной изученностью полоспецифичных механизмов нейропластичности, изучение морфофункциональных изменений гиппокампа у самок представляет актуальную задачу.

Цель. Оценка структурных изменений гиппокампа у самок крыс после перенесённого витального стресса.

Материалы и методы. Исследование выполнено на половозрелых самках крыс Wistar (n=10) (масса 200–250 г, возраст 5 месяцев). Животные были разделены на две группы: интактные самки (контроль, группа С), самки после витального стресса (группа VS). Витальный стресс моделировали обстоятельствами переживания ситуации угрозы жизни от действий хищника (тигрового питона) в течение 60-ти минут. На 10-е сутки после стрессорного воздействия животных декапитировали и производили забор головного мозга (фиксация проводилась в цинк-этанол-формальдегидном фиксаторе) и выделение гиппокампа. Морфологический анализ включал: проводку материала, окраску срезов (толщина 5 мкм) толуидиновым синим по Нисслю; подсчёт численной плотности пирамидных нейронов в поле CA3 (на 1 мм^2) с использованием световой микроскопии (×400); оценку состояния нейронов (сморщенных и гиперхромных клеток); анализ площади ядер и площади хроматина.

Результаты. Витальный стресс у самок крыс вызывал выраженные морфологические изменения в зоне CA3 гиппокампа. В группе VS наблюдалось достоверное уменьшение численной плотности пирамидных нейронов, а также редукция размеров всей гиппокампальной формации по сравнению с контролем. Площадь ядер нейронов CA3 в группе VS была снижена, что свидетельствует о пикнозе и хроматолизе. Доля сморщенных и гиперхромных клеток в поле CA3 у самок VS была выше,чем в контроле. Обнаружено также уменьшение толщины пирамидного слоя CA3 и размеров нейрональный тел. Полученные данные согласуются с результатами других исследователей, показавших, что острый и хронический стресс вызывают атрофию апикальных дендритов пирамидных нейронов CA3 и потерю нейронов в этой зоне [4]. Важно отметить, что поле CA3 является наиболее уязвимой зоной гиппокампа к действию глюкокортикоидов и глутаматной эксайтотоксичности, что объясняет преимущественное поражение именно этой области.

Выводы. Выявленные изменения свидетельствуют о нейродегенеративных процессах в гиппокампе.Поле CA3 является критической зоной, повреждение которой может лежать в основе нарушений контекстуальной памяти и генерализации страха, типичных для ПТСР. Необходимы дальнейшие исследования для углублённого понимания механизмов и последующей разработки нейропротективных методов коррекции. Работа выполнена в рамках государственного задания на фундаментальные научные исследования (FGWG-2025-0019).

Список литературы:

1. *Kim, J. J., & Diamond, D. M. (2002). Nature Reviews. Neuroscience, 3, 453-462.*
2. *Logue M. W. [et al.]. Biological Psychiatry. 2018. Vol. 83, № 3. P. 244-253. DOI: 10.1016/j.biopsych.2017.09.006.*
3. *Kessler RC, et all. Eur J Psychotraumatol. 2017 Oct 27; 8(sup5).*
4. *Conrad CD. Behav Cogn Neurosci Rev. 2006 Mar;5(1):41-60.*

✶ ✶ ✶

ЭФФЕКТЫ ПРОТЕГРИНА-1 И КАТЕЛИЦИДИНА LL-37 НА МОДЕЛЯХ IN VITRO И IN VIVO

Чернов А.Н.[1], Филатенкова Т.А.[1], Асиеду-Баах Н.[2], Бацуури У.[2], Иванов С.Д.[3], Шамова О.В.[1]

[1]Институт экспериментальной медицины,
[2]Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет,
[3]НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова,
Санкт-Петербург

Глиобластома (ГБМ) является одной из самых злокачественных и трудноизлечимых опухолей у человека. Невысокая эффективность терапии ГБМ обусловлена высокой степенью молекулярной и клеточной гетерогенности самой опухоли, включающей помимо опухолевых, присутствие опухолевых стволовых клеток, а также опухоль-ассоциированных лимфоцитов, лейкоцитов, макрофагов, тромбоцитов и др. Эти клетки тесно взаимодействуют с ГБМ, что регулирует опухолевую пролиферацию, клоногенность, метастазирование, ангиогенез. Другой причиной низкой эффективности химиотерапии является развитие в клетках ГБМ феномена множественной лекарственной устойчивости к препаратам. Все эти причины указывают на необходимость новых подходов для терапии ГБМ. Одним из таких подходов может быть использование пептидов врожденного иммунитета, в том числе кателицидина LL-37, выделенного из нейтрофилов человека и протегрина-1 (PG-1), полученного из нейтрофилов свиньи.

Цель. Изучить эффекты кателицидина LL-37 и протегрина-1 (PG-1) на культурах клеток глиомы U251 человека, а также модели глиомы С6, трансплантированной в мозг крысам линии Вистар.

Материалы и методы. Клетки глиом С6, U251 выращивали в стерильных условиях ламинарного бокса в 6-луночных планшетах (TPP, Швейцария) в среде Игла Дульбекко (DMEM), содержащей 10% фетальную телячью сыворотку (FCS) (Sigma Aldrich, США) при 37,0°С и 5,0% CO_2 в течение 2 сут. По истечении 2 сут, клетки снимали 0,25% раствором трипсина в 0,05% ЭДТА (Sigma Aldrich, США), подсчитывали на счетчике клеток TC20 и переносили в количестве 10000 клеток/лунку в 96-луночные планшеты, куда через 1 сут после посева клеток вносили химиопрепараты: доксорубицин (ДОКС), карбоплатин (КАРБ), темозоломид (ТМЗ), цисплатин (ЦИС), этопозид (ЭТО) и пептиды (LL-37 и PG-1) в различных концентрациях. Также верификацию цитотоксического действия пептидов на клетках глиомы проводили с помощью окарашивания клеток 0,4% раствором трипанового синего. Для оценки противоопухолевого действия химиопрепаратов и LL-37, PG-1 на клетках глиомы и расчета 50%- ингибирующей концентрации (ИК50) проводили МТТ-тест.

Эксперименты проводили на взрослых (3-4 мес) крысах-самцах (n=20) линии Вистар массой 250–350 г, полученных из питомника РАМН «Рапполово» (Санкт-Петербург). Животных содержали в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и пище. Перед операцией каждую крысу анестезировали внутрибрюшинной инъекцией 10% хлоралгидрата (4 мл/кг) или препаратом Zoletil100 (тилетамин, золазепам, 50 мг/кг, Virbac, Франция) и фиксировали в положении лежа на животе с помощью крысиного стереотаксического устройства (Harvard Apparatus, США). Всем крысам была проведе-

на нейрохирургическая операция, для чего в правом нижнем углу в сагиттальном направлении делали вертикальный разрез длиной 1 см от середины горизонтальной линии между глазами (брегма). Сверлом диаметром 0,6 мм делали отверстие в черепе на 1 мм выше и на 4 мм правее брегмы. Затем суспензию клеток глиомы С6 (106 клеток/ в 10 мкл физраствора) медленно (в течение 5 мин) вводили в мозг с помощью шприца Гамильтон в объеме 10 мкл согласно следующим координатам: AP=0,8 мм назад от брегмы, SD=1,4 мм латерально от сагиттального шва, H=3,8 мм от поверхности черепа. Иглу медленно извлекали через 5 мин после окончания инъекции. Затем разрез зашивали и шов обрабатывали мазью Левомеколь (Нижфарм, РФ)..

Спустя 7 сут после трансплантации клеток глиомы С6 в мозг, крыс случайным образом распределяли на 4 группы: контрольная (n=5) и экспериментальные (n=15). Контрольным животным интраназально вводили по 20 мкл (10 мкл в каждую ноздрю) физиологического раствора 2 раза в нед. Экспериментальным животным интраназально вводили по 20 мкл LL-37 (35 мкМ, n=5) или 20 мкл PG-1 (16 мкМ, n=5) или ТМЗ (25 мкМ, n=5) 2 раза в нед. Лечение крыс пептидами и ТМЗ проводили до появления симптомов, связанных с быстрым ростом опухоли. Крыс умертвляли ингаляцией CO2 и оценивали общую выживаемость (ОВ) и продолжительность жизни (ПЖ) животных, а также измеряли вес и размер опухоли, когда вскрывали мозг

Статистический анализ. Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения, и считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Для сравнения различий между двумя независимыми группами с небольшим размером выборки (<30) использовался непараметрический U-тест Манна-Уитни. Описательная статистика и анализ выживаемости по Каплану-Мейеру были выполнены с использованием GraphPad Prism версии 8.0.1 (21.09.2020, Сан-Диего, Калифорния, США).

Результаты. На первом этапе было изучено противоопухолевое действие LL-37, PG-1 на культуре клеток глиомы U251 человека при сопоставлении их доз ИК50 с химиопрепаратами, определяемыми с помощью МТТ теста. Доза ИК50 LL-37 (3,1±0,4 мкМ) оказалась ниже, чем дозы ИК50 ЦИС (371,5±23,5 мкМ, p<0,0001), ДОКС (1555,0±207,50 мкМ, p<0,0001), ТМЗ (1725,7±494,0 мкМ, p<0,0001) и КАРБ (3652,9±670,8 мкМ, p<0,0001). Сравнение цитотоксического действия LL-37 по дозе ИК50 (2,0±0,13 мкМ) с дозами ИК50 химиопрепаратов, оцениваемое с помощью окрашивания трипановым синим, показывает, что эффективность LL-37 была сопоставима с действием ЭТО (1,8±0,4 мкМ) и и превышала действия ДОКС (30,0±8,6 мкМ, p=0,0002), ЦИС (82,3±3,2 мкМ, p=0,0010), ТМЗ (134,8±63,7 мкМ) и КАРБ (2600,2±85,8 мкМ, p=0,0015).

Доза ИК50 PG-1 (16,2±3,6 мкМ) была сопоставима с ИК50 ЭТО (25,9±0,6 мкМ) и оказалось ниже, чем ИК50 для ЦИС (371,5±23,5 мкМ, p<0,01), ДОКС 1555,0±207,50 мкМ, p=0,0008), ТМЗ (1725,7±494,0 мкМ, p=0,0003) и КАРБ (3652,9±670,8 мкМ, p<0,0001). Анализ эффектов PG-1 и химиопрепаратов на клетках глиомы U251 показывает, что PG-1 в дозах 64, 32 и 16 мкМ обладает более сильной (p=0,0041) цитотоксической активностью, чем ТМЗ. Напротив, эффективность PG-1, оцениваемая по индексу цитотоксичности с помощью трипанового синего, не отличалась от ЦИС, КАРБ и ЭТО и была в дозах 8, 4, 2 мкМ даже слабее, чем у ДОКС (p=0,0093).

Лечение LL-37 (3 мкМ) крыс с глиомой С6 статистически значимо увеличивало продолжительность жизни (ПЖ, 66,75±12,6 сут, p=0,0008) по сравнению с контрольной группой (26,2±2,66 сут). Воздействие LL-37 значительно уменьшало объем опухо-

ли (31,00±8,8 мм3) и ее массу (49,4±13,3 мг) относительно контрольной группы крыс (153,8±43,53 мг, p=0,038 и 82,50±7,60 мм3, соответственно).

Воздействие PG-1 (7 мкМ) увеличивало ПЖ крыс с глиомой С6 (63±18,2 сут, p=0,0114) по сравнению с контрольной группой животных (26±2,6 сут). Объем (82,2±3,9 мм3) и масса опухоли (111,8±44,7 мг) при введении PG-1 статистически значимо не отличались от контроля (82,5±7,6 мм3 и 56,3±14,7 мг).

Выводы. Кателицидин LL-37 человека и протегрин-1 свиньи обладают цитотоксическим противоопухолевым in vitro действием на клетки глиомы U251 человека. LL-37 также оказывает противоопухолевое действие на модели крыс Вистар с глиомой С6, что подтверждается увеличением ПЖ животных и уменьшением объема и массы опухоли. Проведение дальнейших доклинических и клинических исследований LL-37 позволит использовать этот пептид для терапии ГБМ у пациентов.

* * *

МОДЕЛИРОВАНИЕ ГИДРОДИНАМИЧЕСКОГО ПРИСТЕНОЧНОГО НАПРЯЖЕНИЯ СДВИГА НА КУЛЬТУРЕ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОРБИТАЛЬНОГО ШЕЙКЕРА

Чураков Г.А.[1,2], Орлов С.В.[1], Салль Т.С.[1], Гатаулин Я.А.[1,3], Юхнев А.Д.[1,3], Иванов Н.А.[3]

[1]Институт экспериментальной медицины,
[2]Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет,
[3]Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,
Санкт-Петербург

Гидродинамическое пристеночное напряжение сдвига в кровеносных сосудах является одной из возможных причин развития атеросклероза. Моделирование этого процесса на культуре эндотелиальных клеток позволяет изучать этот процесс на молекулярном уровне.

В наших исследованиях для изучения взаимосвязи между пристеночными сдвиговыми напряжениями кровотока и реакцией эндотелиальных клеток EA.hy926 использовали орбитальные шейкеры, на которые помещали контейнеры с культивируемыми клетками в питательной среде. В экспериментах использовали контейнеры двух видов: культуральные флаконы с площадью 9,6 см² и объёмом 58 мл и чашки Петри с центральным выступом, диаметром 10 см. Для нахождения подбора оптимальной частоты вращения шейкера применяли методы численного моделирования, для чего решали систему уравнений Навье-Стокса для нестационарных течений несжимаемой жидкости. Для моделирования поведения свободной границы жидкости использовали метод VOF (Volume of Fluid). Для валидации численного метода была проведена экспериментальная визуализация движения жидкости с помощью алюминиевой пудры и метода «лазерного ножа». Активность генов, связанных с развитием стресса эндотелиальных клеток, измеряли после выделения РНК из клеток и проведения реакции обратной транскрипции при помощи полуколичественной ПЦР в реальном времени на амплификаторе Real-Time CFX96 Touch.

При орбитальном движении культурального флакона формируется течение типа плескания, близкое к двумерному, а в чашке Петри с выступом – трехмерное течение типа бегущей волны. По результатам расчетов были подобраны диапазоны частоты вращения шейкера (50–140 об/мин) и уровня наполнения контейнера (30-50%), при которых обеспечивается физиологический диапазон значений сдвиговых напряжений на дне контейнера. При воздействии на клетки в течение 24 часов в культуральных флаконах наблюдали повышение экспрессии генов, кодирующих пуринергические рецепторы (P2Y2 и P2X4), гена эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) и генов Krüppel-like транскрипционных факторов 2 и 4 (KLF2 и KLF4). В чашках Петри не наблюдали изменения активности этих, как и других проверенных генов.

Сравнение двух систем, имеющих разные профили течения, позволяет выбрать систему с более сложным профилем течения как имитацию гемодинамического стресса, тогда как система, генерирующая круговую волну имитирует нормальное течение крови.

ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИКА НА ОСНОВЕ BIFIDOBACTERIUM ADOLESCENTIS И LACTOBACILLUS PLANTARUM И ДЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА СТРУКТУРУ МИКРОБИОТЫ И ПОВЕДЕНИЕ КРЫС ЛИНИЙ С РАЗЛИЧНОЙ ВОЗБУДИМОСТЬЮ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Шалагинова И.Г.[1], Вылегжанина А.Э.[2], Кацеров Д.С.[2]
[1]Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН,
[2]Балтийский федеральный университет им. И. Канта,
Калининград

Особенности постстрессорных изменений микробиоты кишечника зависят от врожденных особенностей нервной системы. Эффекты пробиотиков как модуляторов оси «микробиота–кишечник–мозг» также могут определяться генетическим фоном организма. Целью работы было оценить влияние пробиотика, содержащего штаммы *Bifidobacterium adolescentis* и *Lactobacillus plantarum*, на микробиоту, поведение и экспрессию TNF-α у крыс с контрастной возбудимостью нервной системы после длительного стресса.

Исследовали 48 самцов крыс линий НП (высоковозбудимые) и ВП (низковозбудимые), распределенных на восемь групп по шесть животных с учетом линии, стресса и введения воды или пробиотика. Препарат вводили перорально 7 дней до стрессирования и в течение 15 дней эмоционально-болевого стресса. Фекалии собирали до стрессирования и через 7 дней после его завершения. Поведение оценивали в тестах «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт». Состав микробиоты определяли секвенированием V4-области гена 16S рРНК; оценивали альфа- и бета-разнообразие и дифференциальную представленность родов методом DESeq2. Экспрессию мРНК TNF-α в гиппокампе и миндалине измеряли методом ПЦР в реальном времени.

У животных, получавших воду вместо пробиотика, стресс изменял бета-разнообразие микробиоты обеих линий, не влияя значимо на альфа-разнообразие. У крыс линии ВП значимо изменялась численность девяти родов, тогда как у НП значимых изменений отдельных таксонов не выявлено. На фоне пробиотика влияние стресса не сопровождалось изменениями альфа- и бета-разнообразия, но таксон-специфические сдвиги сохранялись: у линии НП увеличивалась представленность родов *Catenibacterium* и *Anaerobiospirillum* и снижалась представленность *Ligilactobacillus*, у ВП снижалась представленность *Lactobacillus*. В группе, которой вводили пробиотик, но не воздействовали стрессом, по сравнению с контролем отмечено снижение индекса Chao1 у линии НП и увеличение представленности рода *Prevotella* у ВП. Выраженные поведенческие изменения после стресса выявлены только у крыс линии НП, получавших пробиотик: в приподнятом крестообразном лабиринте возрастала исследовательская активность и снижалась неподвижность. Экспрессия TNF-α значимо не изменялась ни у одной из линий.

Таким образом, реакция микробиоты и изменение поведения в ответ на стресс и пробиотик зависела от линии животных. Отсутствие перестройки бета-разнообразия на фоне пробиотика согласуется с возможным ограничением стресс-

индуцированных изменений структуры сообщества, но не свидетельствует о полном предотвращении постстрессорных изменений отдельных таксонов. Индивидуальные особенности и генетически детерминированные свойства нервной системы необходимо учитывать при оценке эффектов пробиотических вмешательств. Финансирование: исследование поддержано средствами федерального бюджета в рамках государственного задания ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН (№ 1021062411629-7-3.1.4).

✶ ✶ ✶

ВАЛИДАЦИЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ АДЕНОМИОЗА НА КРЫСАХ ЛИНИИ WISTAR

Шалина Я.А., Пюрвеев С.С., Лебедев А.А., Шабанов П.Д.
Институт экспериментальной медицины,
Санкт-Петербург

Аденомиоз — это доброкачественное заболевание матки, характеризующееся прорастанием ткани эндометрия в ее мышечный слой (миометрий). Исследования на животных позволили частично изучить до сих пор не до конца понятный патогенез болезни, создали базу для доклинической проверки потенциальных лекарств и помогли понять причины развития болевого синдрома и снижения фертильности, с которыми сталкиваются многие женщины с этим диагнозом.

Цель. Изучить влияние неонатального введения антагониста рецептора эстрогена тамоксифена на формирование экспериментального аденомиоза у самок крыс.

Материалы и методы. Эксперимент проводился на потомстве самок крыс линии Wistar (n=30). Каждая клетка маркировалась индивидуальным номером для обеспечения процедуры рандомизации, по результатам которой были сформированы две группы: контрольная (n=15) и группа с экспериментальной моделью аденомиоза (n=15).

Моделирование аденомиоза осуществляли путем перорального введения антагониста рецепторов эстрогенов тамоксифена в дозе 1 мг/кг (20 мг) новорожденным самкам со 2-го по 8-й день жизни включительно с использованием зонда. Животным контрольной группы вводили эквивалентный объём физиологического раствора.

После достижения половой зрелости в течение 9 дней ежедневно брали влагалищные мазки для оценки фазы эстрального цикла. Для оценки болевого синдрома и степени общей гипералгезии использовали тест горячей пластины: крыс помещали на поверхность, разогретую до 65 °C, и фиксировали латентный период до начала характерных умывательных движений. Увеличение значения латентности свидетельствовало о снижении выраженности гипералгезии.

На завершающем этапе проводилось выведение крыс в день эструса. Извлеченные органы (влагалище, матка, яичники) фиксировали в 10% растворе формалина с последующей стандартной гистологической проводкой и окраской гематоксилином и эозином для микроскопического исследования.

Статистическую обработку результатов выполняли в программе GraphPad Prism 8.0.1. Различия между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. По данным цитологического анализа влагалищных мазков, нарушения эстрального цикла были зафиксированы у 80% животных экспериментальной группы. Оценка болевой чувствительности в тесте горячей пластины выявила статистически значимые различия между группами ($p < 0,05$). Латентный период реакции у крыс с индуцированным аденомиозом достоверно снизился и составил 40,1 ± 7,2 с, тогда как в контрольной группе данный показатель достигал 62,7 ± 5,2 с, что свидетельствует о развитии выраженной системной гипералгезии. Гистологическое исследование подтвердило успешность воспроизведения модели: инвазия железистых структур эндометрия в миометрий была верифицирована у всех животных опытной группы (15 из 15, 100%). В образцах тканей контрольных крыс эктопия эндометриальных желез в мышечном слое матки отсутствовала.

Выводы. Установлено, что неонатальное пероральное введение тамоксифена обеспечивает стабильное воспроизведение экспериментального аденомиоза со 100% частотой формирования эндометриальных очагов в миометрии и развитием нарушений эстрального цикла у 80% животных. Полученные данные подтверждают адекватность и высокую воспроизводимость данной модели, что обосновывает ее дальнейшее применение в доклинических исследованиях для фармакологического скрининга перспективных лекарственных средств, направленных на терапию аденомиоза.

✶ ✶ ✶

ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ MIR-29C-3P В ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЕ И ГИПОТАЛАМУСЕ У САМОК КРЫС В МОДЕЛИ КОМПУЛЬСИВНОГО ПЕРЕЕДАНИЯ

Шамаева С.А., Надбитова Н.Д., Шабанов П.Д.
Институт экспериментальной медицины,
Санкт-Петербург

Актуальность. Компульсивное переедание представляет собой гетерогенное расстройство пищевого поведения, патогенетическую основу которого составляет дисбаланс систем подкрепления и вознаграждения мозга. В последние годы активно исследуется эпигенетическая регуляция этих процессов, в частности, роль микроРНК. Имеющиеся данные указывают на то, что экспрессия семейства микроРНК miR-29c-3p ассоциирована с модуляцией мотивационного поведения и пластичностью нейрональных сетей, вовлеченных в формирование зависимостей.

Цель. Изучить влияние компульсивного переедания на уровень miR-29c-3p в префронтальной коре самок крыс.

Материалы и методы. В работе использовано 16 половозрелые крысы самки линии «Вистар» массой 200–250 г полученных из питомника лабораторных животных «Рапполово» (Ленинградская область). Все животные были разделены на 2 экспериментальных групп по 8 особей в каждой. Экспериментальные группы получали в течение 1 ч доступ к диете с высоким содержанием углеводов (смесь на основе шоколадной пасты Nutella) 3 раза в неделю. Контрольные животные потребляли только стандартный гранулированный корм. По окончании эксперимента крыс декапитировали и производили забор префронтальной коры головного мозга. Суммарную РНК выделяли посредством Extract RNA (Евроген, РФ). Полиаденилирование выполнено с помощью поли(А)-полимеразы E.coli (New England Biolabs Inc., США). Обратная транскрипция выполнена с использованием «MMLV RT kit» (Евроген, РФ). ПЦР в реальном времени проводили в 10 мкл смеси, которая включала в себя SYBR Green MIX (Евроген, РФ) и специфические праймеры (BioBeagle, РФ). Данные были посчитаны методом $2\Delta\Delta Ct$, статистически обработаны.

Результаты и обсуждение. В результате исследования было выявлено статистически значимое снижение уровня miR-29c-3p и в префронтальной коре (в 1,2 раза, $p = 0.04$), и в гипоталамусе (в 1,32 раза, $p=0,045$).

Выводы. Полученные данные свидетельствуют о том, что miR-let-7b-5p может рассматриваться как потенциальный эпигенетический маркер нейроадаптивных процессов при компульсивном переедании. В продолжение работы планируется изучить спектр других генов-мишеней miR-29c-3p, её взаимодействие с орексинергической и грелинергической регуляцией в исследуемых отделах мозга, а также провести сравнительный анализ полученных данных у особей обоего пола.

* * *

UNIVERSAL OPERATOR OR CONTEXT-DEPENDENT ORCHESTRATOR? IVERMECTIN, PURINERGIC SIGNALING, AND THE MICROBIOTA-MEDIATED ONCOLOGICAL PHENOTYPE IN 2026

Sharygina K., Baryshnikova N.
[1]*Medical Science Liaison,*
Budva, Montenegro,
[2]*Institute of Experimental Medicine,*
Saint Petersburg, Russia

Cancer is increasingly viewed as a chronic, ecologically embedded disease rather than a cell-autonomous genetic lesion. In our work, we perform a narrative review integrating three previously siloed research domains: cancer microbiome dynamics, purinergic signaling role in cancer development, and the molecular-metabolomic basis of ivermectin in oncology, within a unified contextual framework. Recent microbiome research demonstrates how gut and intratumoral microbiota shape host immune tone and drug metabolism, while purinergic signaling acts as the molecular substrate of the Cell Danger Response, where unresolved chronic alarm drives pathology. Integrating these fields, we evaluate ivermectin, a macrocyclic lactone with a multitargeted anticancer profile and positive allosteric modulation of P2X4, as a candidate purinomodulating agent capable of potentiating microbiome-directed cancer therapies. Through narrative synthesis, we review a new hypothesis on resolving ivermectin's pharmacokinetic challenge: the gap between nanomolar free plasma levels and micromolar in vitro targets by proposing a concentration-bridging strategy via hydroxychloroquine. Furthermore, because oral ivermectin undergoes high fecal elimination, mucosal exposure exceeds systemic levels, enabling host purinergic modulation of barrier function, mucus, and immune tolerance. This bidirectional host-microbe feedback loop establishes baseline ligand tone, positioning ivermectin as a microbiota-shift facilitator that can stabilize the durability of fecal microbiota transplantation. Realizing this framework requires moving beyond uniform dosing toward patient stratification informed by genetic, receptor, and microbial metabolomic profiles, while recognizing that causal and clinical validation remain priorities for future investigation.

✶ ✶ ✶

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЯ НАКОПЛЕНИЯ СВИНЦА В БИОСРЕДАХ ПРИ ОСТРЫХ ИНТОКСИКАЦИЯХ У КРЫС

Шемаев М.Е., Рейнюк В.Л., Мельникова М.В., Вариошкин П.Н., Лапина Н.В., Коростелев М.Ю.
Научно-клинический центр им. С.Н. Голикова, Санкт-Петербург

Актуальность. К группе нейротропных токсикантов относят тяжелые металлы, в частности, свинец как один из приоритетных неорганических токсикантов и металл первого класса опасности. Его соединения широко используются в промышленности, поэтому проблема его влияния на организм человека остается актуальной.

Цель. Определить динамику концентрации и уровни накопления свинца в биосредах в условиях острой интоксикации у крыс при внутрибрюшинном введении ацетата свинца в дозе 300 мг/кг (соответствует LD50).

Материалы и методы. В исследовании использовались здоровые нелинейные белые крысы-самцы с массой тела 180-220 г, Животные распределялись на две группы: контрольную и опытную (с токсикантом). Воздействие ацетата свинца производилось путем его однократного внутрибрюшинного введения в дозе 300 мг/кг в виде 4,8% водного раствора. Контрольная группа не подвергалась токсическому действию. Введение токсикантов считали 1 днем исследования. На 3, 15 и 29 день часть животных выводилось из эксперимента путем помещения в камеру с CO2 и осуществлялся отбор биологического материала (кровь, головной мозг, печень и почки).

Пробоподготовку образцов выполняли путем СВЧ минерализации. Количественный анализ содержания свинца проводился методом ИСП-МС. Статистическая обработка данных выполнена в ПО STASTICA 12. Данные представлены в виде среднего арифметического с ошибкой среднего. Различия оценивались по методу дисперсионного анализа (ANOVA) и принимались статистически значимыми при $p<0,05$.

Результаты и обсуждение. В течение месяца после острого отравления содержание свинца в органах и тканях существенно изменяется. Так, в крови концентрация свинца в группе с токсикантом к концу месяца увеличивается примерно в 20 раз (до 2000 мкг/л), что свидетельствует о медленной его абсорбции из брюшной полости. В почках максимальная концентрация наблюдается на 15 день эксперимента (до 3400 мкг/л), после чего к концу месяца существенно снижается. В печени концентрация свинца в начале эксперимента максимальна (5670 мкг/л), что объяснимо с учетом пути его первичного поступления по системе портальной вены в печень, и последующего перераспределения по организму со снижением концентрации в этом органе. Концентрация свинца в тканях мозга опытной группы практически не изменялась в ходе эксперимента (около 100 мкг/л), что также объясняется низкой проницаемостью гематоэнцефалического барьера как для поступления свинца в мозг, так и для его выведения.

После однократного острого воздействия ацетата свинца на крыс, имеется отрицательная корреляция между динамикой изменения концентрации свинца в крови и печени, что подтверждает особенности первичного распределения токсиканта при внутрибрюшинном способе его введения.

Выводы. Токсикокинетические расчеты показывают, что период удержания свинца в тканях мозга (до уровня интактных животных) при однократном введении в полулетальной дозе превышает 7 месяцев, что является достаточным для формирования отдаленных последствий острых отравлений, имеющих под собой морфологическую основу. Для печени и почек период удержания токсиканта в тканях этих органов после острых отравлений более короткий, 1-1,5 месяца, что позволяет прогнозировать для этих тканей наличие в основном функциональных признаков токсического поражения.

* * *

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНОЙ АНЕМИИ У БЕРЕМЕННЫХ И ЕЕ ВЛИЯНИЕ НА ТЕЧЕНИЕ БЕРЕМЕННОСТИ

Эшкулова Г.А.
Ташкентский государственный медицинский университет, Термез, Узбекистан

Железодефицитная анемия (ЖДА) относится к числу наиболее социально значимых заболеваний, поражающих беременных женщин, и встречается, по данным различных авторов, у 30–40% из них. В основе патогенеза лежат молекулярные нарушения обмена железа — снижение экспрессии белка-переносчика трансферрина, нарушение регуляции гепсидина, ключевого гормона, контролирующего всасывание железа в кишечнике, а также снижение активности ферментов, участвующих в синтезе гема. Изучение данных молекулярных механизмов позволяет глубже понять патогенез заболевания и разработать более эффективные подходы к его профилактике и коррекции.

Цель. Изучить молекулярные механизмы развития железодефицитной анемии у беременных и оценить их влияние на течение беременности и родов.

Материалы и методы. Проведён анализ данных отечественной и зарубежной научной литературы по молекулярным аспектам метаболизма железа при беременности, а также ретроспективный анализ историй родов пациенток с диагностированной железодефицитной анемией различной степени тяжести. Оценивались уровень гемоглобина, ферритина сыворотки крови, показатели обмена железа, а также характер течения беременности и родов.

Результаты. Установлено, что ключевую роль в патогенезе ЖДА у беременных играет дисбаланс регуляции гепсидина: повышение его уровня на фоне физиологического воспалительного статуса беременности приводит к блокированию ферропортина и снижению всасывания железа в кишечнике. Одновременно повышенная потребность в железе для эритропоэза матери и плода усугубляет истощение депо железа. У беременных с ЖДА достоверно чаще регистрировались угроза прерывания беременности, плацентарная недостаточность, задержка роста плода и преждевременные роды. Также отмечена более высокая частота слабости родовой деятельности и кровотечений в раннем послеродовом периоде.

Выводы. Молекулярные нарушения обмена железа, в частности дисрегуляция гепсидин-ферропортиновой системы, лежат в основе развития железодефицитной анемии у беременных и определяют высокий риск акушерских и перинатальных осложнений. Понимание данных механизмов обосновывает необходимость раннего скрининга показателей обмена железа и своевременной патогенетической коррекции на всех сроках гестации.

* * *

ФАКТОРЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ РЕПРОДУКТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ЖЕНЩИНЫ: ВЛИЯНИЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПОДРОСТКОВОГО ПЕРИОДА, ОБРАЗА ЖИЗНИ, СТРЕССА И ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ

Юсупова З.Д.

Ташкентский государственный медицинский университет, Ташкент, Узбекистан

Подростковый период является критическим этапом формирования репродуктивного потенциала, поскольку в это время происходят становление гипоталамо-гипофизарно-яичниковой оси, созревание репродуктивных органов и формирование метаболических и поведенческих паттернов, которые могут сохраняться во взрослом возрасте. ВОЗ рассматривает подростковый возраст как важный период закладки основ здоровья, включая сексуальное и репродуктивное здоровье. Поэтому раннее выявление нарушений менструального цикла, эндокринных и воспалительных заболеваний, а также коррекция модифицируемых факторов риска имеют значение для сохранения будущей фертильности.

Цель. Проанализировать основные биологические и социально-поведенческие факторы подросткового периода, которые могут влиять на репродуктивный потенциал женщины в дальнейшем, с особым вниманием к гинекологическим и эндокринным заболеваниям, образу жизни, хроническому стрессу и генетической предрасположенности.

Материалы и методы. Проведен аналитический обзор современных научных публикаций и рекомендаций по вопросам здоровья подростков, репродуктивной функции, метаболических и гинекологических нарушений, психоэмоционального стресса и наследственных факторов. В качестве методологической основы использованы материалы Всемирной организации здравоохранения и данные современной медицинской литературы. Работа имеет обзорный характер и не содержит собственных клинических наблюдений.

Результаты. К наиболее значимым состояниям подросткового возраста, потенциально связанным с последующим нарушением репродуктивной функции, относятся нарушения менструального цикла, синдром поликистозных яичников (СПКЯ), ожирение и выраженный дефицит массы тела, гиперпролактинемия, заболевания щитовидной железы, анемия, эндометриоз и воспалительные заболевания органов малого таза. Особенно важны длительные или повторяющиеся нарушения овуляции, поскольку они могут отражать дисрегуляцию нейроэндокринных механизмов репродукции. При этом отдельные симптомы в подростковом возрасте не следует автоматически расценивать как заболевание: диагноз должен основываться на возрасте, длительности симптомов, клинической картине и соответствующих исследованиях. Значимым модифицируемым компонентом является образ жизни. Недостаточная физическая активность, избыток энергетически плотной пищи, дефицит микронутриентов, нарушения сна, употребление табака и других психоактивных веществ способны ухудшать метаболическое и общее состояние здоровья. ВОЗ отмечает, что именно в подростковом возрасте закрепляются пищевые и поведенческие привычки, влияющие на здоровье в последующие годы. Для стран Европейского региона и Центральной Азии актуальны проблемы физи-

ческой неактивности, нездорового питания и социально-экономического неравенства; поэтому профилактические программы должны учитывать региональный социальный и культурный контекст, а не ограничиваться индивидуальными рекомендациями. Хронический психоэмоциональный стресс может воздействовать на репродуктивную систему через изменение работы гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и гипоталамо-гипофизарно-яичниковой осей. Наиболее выраженные нарушения при сочетании стресса с дефицитом энергии, недостатком сна, чрезмерными 1/3 кими нагрузками или другими метаболическими факторами. В результате но функциональное нарушение овуляции и менструального цикла. Следовательно, оценка репродуктивного здоровья подростка должна включать не только гинекологический осмотр, но и оценку сна, питания, физической активности и психоэмоциональной нагрузки.

Генетические факторы формируют индивидуальную предрасположенность к нарушениям репродуктивной функции, метаболическим заболеваниям и некоторым опухолевым процессам. При этом наследственная предрасположенность реализуется во взаимодействии с факторами окружающей среды и образом жизни. Таким образом, перспективным направлением является изучение взаимодействия генетических, эндокринных, метаболических и поведенческих факторов в рамках персонализированной профилактики.

Выводы. Репродуктивный потенциал женщины формируется задолго до наступления репродуктивного возраста. На него одновременно воздействуют заболевания подросткового периода, состояние эндокринной системы, питание и масса тела, физическая активность, сон, психоэмоциональный стресс и генетическая предрасположенность. Раннее выявление стойких нарушений менструального цикла и эндокринно-метаболических расстройств в сочетании с профилактикой модифицируемых факторов риска может способствовать сохранению репродуктивного здоровья. Для стран СНГ и Центральной Азии целесообразно развивать доступное подростковое профилактическое консультирование с учетом местных социальных и культурных условий.

Ключевые слова: *подростковый возраст; репродуктивное здоровье; фертильность; менструальный цикл; СПКЯ; стресс; образ жизни; генетическая предрасположенность; профилактика.*

Список литературы:

1. *World Health Organization. Adolescent health. WHO, 2026.*
2. *World Health Organization. Adolescent and young adult health: health risks and solutions. 26 November 2024.*
3. *World Health Organization Regional Office for Europe. A focus on adolescent physical activity, eating behaviours, weight status and body image in Europe, central Asia and Canada: HBSC international report from the 2021/2022 survey. 2024.*

* * *

ВЛИЯНИЕ НОВОГО NMDA-ЛИГАНДА НА ЭКСПРЕССИЮ СУБЪЕДИНИЦ ГЛУТАМАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ У КРЫС

Яковлева Е.Е., Ситдикова К.К., Яковлева В.Г., Бычков Е.Р., Шабанов П.Д.

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Актуальность. Дисрегуляция глутаматной передачи связана с развитием множества нейродегенеративных заболеваний, среди которых болезнь Паркинсона занимает одну из ключевых позиций. Патогенез болезни Паркинсона связан в первую очередь с гибелью дофаминергических нейронов и истощением запасов дофамина, однако в последнее время большое внимание уделяют роли NMDA-рецепторов в механизмах развития данного заболевания. Показано, что двигательные симптомы болезни Паркинсона связаны в том числе и с гиперактивацией глутаматергических нейронов базальных ганглиев. Таким образом, модуляция работы NMDA-рецепторного комплекса является перспективным направлением в разработке новых фармакологических соединений для лечения нейродегенеративных расстройств.

Цель. Исследование влияния нового NMDA-лиганда - 4,5-дигидроксиметил-2-фенилимидазола на экспрессию субъединиц GluN2 A-D в головном мозге мышей на модели экспериментального паркинсонизма с введением 6-гидроксидофамина .

Материалы и методы. Для моделирования нейродегенеративных процессов использовали 6-гидроксидофамин. Опытной группе белых мышей через 2 недели на протяжении двух недель внутрибрюшинно вводили 4,5-дигидроксиметил-2-фенилимидазол в дозе 15 мг/кг. Контрольная группа внутрибрюшинно получала 0,9% раствор хлорида натрия. Оценка противопаркинсонической активности проводилась с помощью трех тестов: «открытое поле», оценка координации в установке «ротарод» и pole-тест. По окончании проведения поведенческих тестов проводили декапитацию и выделение полосатого тела из головного мозга мышей. Обратную транскрипцию проводили с использованием набора реактивов MMLVRTkit (Евроген, Россия) по методическому указанию производителя. Определение концентрации мРНК субъединиц GluN2A-D проводилось с проведением полимеразно-цепной реакции в реальном времени с использованием технологии Syber Green. Статистическая обработка данных проводилась в программе GraphPad Prism 6.0. В нормально распределенных выборках использовался однофакторный дисперсионный анализ (one-way ANOVA). Различия между группами считали достоверными при $p < 0.05$.

Результаты и обсуждение. В экспериментальной модели паркинсонизма с введением 6-гидроксидофамина наблюдалось увеличение экспрессии субъединиц GluN2A, GluN2B, GluN2D в полосатом теле головного мозга мышей, тогда как последующее введение 4,5-дигидроксиметил-2-фенилимидазола приводило к достоверному уменьшению уровня экспрессии генов субъединиц GluN2A и GluN2B, но не GluN2C. Таким образом, показано, что 4,5-дигидроксиметил-2-фенилимидазол проявляет достоверную антагонистическую активность на GluN2A- и GluN2B-содержащие NMDA-рецепторы.

Выводы. Достоверное уменьшение экспрессии генов данных субъединиц на фоне применения нового NMDA-блокатора демонстрируют основополагающее значение глутаматергической передачи при такой нейродегенеративной патологии, как болезнь Паркинсона, а также способность 4,5-дигидроксиметил-2-фенилимидазола модулировать активность NMDA-рецепторов на генном уровне, что позволяет рассматривать соединения данного класса в качестве перспективных фармакологических агентов для коррекции нейропатологии и рекомендовать их для дальнейшей разработки.

✶ ✶ ✶

АНАЛЬГЕТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО ИМИДАЗОЛ-4,5-ДИКАРБОНОВОЙ КИСЛОТЫ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛИ У КРЫС

Яковлева Е.Е.[1], Камалова М.Т.К.[2], Смалайкина А.А.[2], Яковлева В.Г.[2], Брусина М.А.[1], Бычков Е.Р.[1], Шабанов П.Д.[1]

[1]Институт экспериментальной медицины,
[2]Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет,
Санкт-Петербург

Актуальность. Основными направлениями повышения безопасности и качества обезболивания в настоящее время являются уменьшение рисков полипрагмазии, выбор рациональных комбинаций анальгетиков, минимизация применения наркотических анальгетиков, сопровождающегося развитием толерантности и зависимости к ним, а также разработка новых эффективных и безопасных лекарственных средств с анальгетической активностью. Бис-метиламид 2-пропил-1-этилимидазол-4,5-дикарбоновой кислоты (соединение БМА-2П-1Э-ИДК) представляет собой производное имидазол-4,5-дикарбоновой кислоты, относящееся к принципиально новому классу антагонистов NMDA-рецепторов, взаимодействующих с узнающим сайтом рецептора и обеспечивающих безопасную управляемую модуляцию глутаматной передачи в процессах ноцицепции.

Цель. Изучение анальгетической активности нового производного имидазол-4,5-дикарбоновой кислоты - соединения БМА-2П-1Э-ИДК в модели нейропатической боли у крыс.

Материалы и методы. Хронический болевой синдром у крыс создавали при помощи перевязки седалищного нерва на уровне подколенной ямки выше места его трифуркации на большеберцовый, малоберцовый и икроножный нервы. После лигирования седалищного нерва определяли степень изменения чувствительности оперированной задней конечности крыс при помощи метода hot plate. Формирование нейропатического болевого синдрома определяли по появлению признаков аутотомий на оперированной лапе на 7-е, 14-е и 21-е сутки эксперимента. Интенсивность аутотомий оценивали по 12-ти балльной шкале у крыс опытных групп (n = 6), получавших в течение 21 суток соединение БМА-2П-1Э-ИДК в дозах 20 и 40 мг/кг, контрольной группы (n = 6), получавших 0,9% раствор хлорида натрия, и групп сравнения, получавших диклофенак в дозе 10 мг/кг и габапентин в дозе 180 мг/кг. Критерием анальгетического эффекта считали достоверное уменьшение числа болевых паттернов, по сравнению с контрольной группой. Статистическая обработка данных проводилась в программе GraphPad Prism 6.0. В нормально распределенных выборках использовался однофакторный дисперсионный анализ (one-way ANOVA). Различия между группами считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. На 21 сутки подтверждено развитие хронического нейропатического синдрома у крыс в послеоперационном периоде. При этом у контрольных животных интенсивность боли составляла 10,83 ± 2,1 балла. На фоне введения нестероидного противовоспалительного препарата интенсивность аутотомий на 21-й день

эксперимента уменьшалась до 8,67 ± 1,2 балла. В группе животных, получавших соединение БМА-2П-1Э-ИДК в дозе 20 мг/кг, интенсивность аутотомий составляла 7 ± 2,5 балла. На фоне введения соединения БМА-2П-1Э-ИДК в дозе 40 мг/кг интенсивность аутотомий к 21-му дню эксперимента уменьшалась до 4,4±2,5 балла, что предотвращало от повреждения животными пальцев оперированной задней конечности. Показатели интенсивности аутотомий в опытной группе были достоверно ниже показателей, полученных в группе сравнения, получавшей диклофенак в дозе 10 мг/кг. Столь же значимыми показатели противоболевой активности были в группе, получавший габапентин, и равнялись 3,9±2,4 балла.

Выводы. На модели хронической нейропатической боли с перевязкой седалищного нерва у крыс при внутрибрюшинном введении в дозе 40 мг/кг продемонстрирована достоверная анальгетическая активность нового производного имидазол-4,5-дикарбоновой кислоты – соединения БМА-2П-1Э-ИДК, превосходящая таковую у препарата сравнения диклофенак и сопоставимая с анальгетической активностью габапентина. Полученые результаты позволяют рассматривать фармакологические соединения данного класса NMDA-лигандов в качестве перспективных для дальнейшей разработки лекарственных средств с анальгетической активностью.

Всероссийская научно-практическая
конференция с международным участием

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

приурочена к юбилею
академика РАН Софронова Г.А.

НАУЧНО-ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЙ
ФОРУМ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ
**«ИНИЦИАТИВНЫЕ.
ЭНЕРГИЧНЫЕ. МОЛОДЫЕ!»**

НЕЙРОСЕТЕВОЙ АНАЛИЗ ЭХОГРАФИЧЕСКИХ ИЗОБРАЖЕНИЙ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ ПЛОДА. ОБЗОР ВОЗМОЖНОСТЕЙ РАЗРАБОТАННОЙ ТЕХНОЛОГИИ ИСКУССТВЕННОГО ИНТЕЛЛЕКТА

Арутюнян Е.А.
Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар

Предпосылки к проведению исследования. На сегодняшний день врожденные пороки сердца плода являются наиболее распространенными среди всех врожденных аномалий. В связи с этим актуальными задачами являются поиск новых решений для совершенствования пренатальной диагностики. Применение искусственного интеллекта может стать новой компьютерной технологией в диагностике врожденных аномалий сердца плода.

Цель. Определить диагностические возможности применения разработанной интеллектуальной информационной системы поддержки принятия решений «Формирование инструментального диагноза для выявления пороков сердечно-сосудистой системы у плода» на основе нейросетевых моделей в оценке анатомических элементов сердечно-сосудистой системы плода.

Материалы и методы. Исследование по оценке возможностей применения разработанной системы в пренатальной диагностике в оценке анатомических элементов сердечно-сосудистой системы плода проводилось сотрудниками кафедры лучевой диагностики №1 ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России. Исследование является многоцентровым, так как сбор материала проводился на базах Краевого перинатального центра города Краснодара, ГБУЗ «Перинатальный центр ККБ №2» и ГБУЗ «Лабинская ЦРБ». В ходе исследования было обследовано более 1000 пациенток во II и III триместрах беременности и получено более 3000 статичных эхографических срезов. Для обучения искусственного интеллекта проводилась графическая маркировка снимков.

Результаты и обсуждение. Было получено более 3000 статичных эхографических изображений с визуализацией анатомических структур в 3 срезах – четырехкамерном, срезе через три сосуда и поперечно-абдоминальном. С целью обучения искусственного интеллекта в распознавании заданных анатомических ориентиров проводилась графическая маркировка для определения качественных показателей. Для контроля правильной и грамотной маркировки снимков проводились расчеты количественных показателей.

Вывод. Возможности применения новых компьютерных технологий в современной пренатальной ультразвуковой диагностике в выявлении врожденных пороков сердца плода в триместре беременности могут позволить усовершенствовать формирование инструментального диагноза и создать группы риска.

Предпосылки к проведению исследования. Врожденные пороки сердца (ВПС) являются большой группой аномалий с различными анатомическими вариантами формирования патологий с структурными и функциональными нарушениями сердца и крупных сосудов, впадающих в его полости или выходящих из них. Эти врожденные нарушения являются наиболее распространенными среди всех врожденных пороков

развития плода с частотой от 2 до 15 случаев на 1000 новорожденных. По данным отечественной литературы, врожденные пороки сердца плода занимают около 10% среди причин младенческой смертности. Значит, актуальными задачами на сегодняшний день являются усовершенствование современной диагностики врожденных нарушений сердца плода и поиск новых решений и методов для максимально достоверного и раннего выявления врожденных нарушений. Такой новой технологией может стать искусственный интеллект (ИИ). Нейросетевой анализ — это способность компьютерной системы ИИ выполнять задачи, для которых обычно требуется человеческий интеллект [1-5]. Тогда нужно оценить диагностические возможности применения разработанной интеллектуальной информационной системы поддержки принятия решений «Формирование инструментального диагноза для выявления пороков сердечно-сосудистой системы у плода» на основе нейросетевых моделей в оценке анатомических элементов сердечно-сосудистой системы плода.

Цель. Определить диагностические возможности применения разработанной интеллектуальной информационной системы поддержки принятия решений «Формирование инструментального диагноза для выявления пороков сердечно-сосудистой системы у плода» на основе нейросетевых моделей в оценке анатомических элементов сердечно-сосудистой системы плода.

Материалы и методы.

С января 2025 года и по настоящее время сотрудниками кафедры лучевой диагностики №1 ФГБОУ Кубанского государственного медицинского университета проводилось исследование по оценке разработанной интеллектуальной информационной системы поддержки принятия решений «Формирование инструментального диагноза для выявления пороков сердечно-сосудистой системы у плода» на основе нейросетевых моделей в выявлении врожденных пороков развития сердца плода. Исследование является многоцентровым, так как проводилось при участии следующих лечебных учреждений - Краевого перинатального центра города Краснодара, ГБУЗ «Перинатальный центр ККБ №2» и ГБУЗ «Лабинская ЦРБ».

Методология исследования заключалась в выделении клинически значимых анатомических ориентиров в тех срезах, где структуры изучаемых систем и органов наиболее качественно можно оценить. Было обследовано более 1000 пациенток во II и III триместрах беременности согласно рекомендациям ISUOG и приказу № 1130 Н от 20.10.2022 года. После проведенных УЗИ было получено более 8000 статических кадров, так как для тестирования ИИ необходимы три среза – четырехкамерный, срез через три сосуда и поперечно-абдоминальный. Важной задачей данного исследования являлось грамотное графическое выделение анатомических структур на каждом выбранном срезе.

В ходе данного исследования в четырехкамерном срезе маркированными анатомическими структурами являлись окружность (контур) грудной клетки, окружность (контур) сердца, правое предсердие, левое предсердие, правый желудочек, левый желудочек, позвоночник, грудина (рис. 1). Выделение окружностей грудной клетки и сердца необходимы для расчета показателя соотношения площади указанных структур в данном сечении. Графическое выделение камер сердца проводилось для расчета показателей соотношения площадей правых отделов сердца к левым (правого предсердия к левому; правого желудочка к левому). А также проводилась оценка оси сердца плода (длинная ось сердца в норме направлена влево под углом около 45 ± 20 градусов) и оценка позиции

сердца в грудной полости (в норме сердце занимает не больше одной трети всей области грудной клетки).

В ходе данного исследования в срезе через три сосуда объектами графического выделения были окружность (контур) грудной клетки, легочная артерия, аорта и верхняя полая вена (рис. 2). В поперечно-абдоминальном срезе анатомическими элементами для нейросетевого анализа стали контур брюшной полости и желудок (рис. 3).

Выбор данных срезов, анатомических структур и ультразвуковых параметров для исследования врожденных пороков сердца плода проводились по рекомендациям ISUOG [5].

В функциональные возможности нейросети входит возможность автоматического нахождения (распознавания) всех описанных выше анатомических структур и их корректного выделения, а также определение четких границ между камерами сердца и оси сердца.

В функциональные возможности нейросетевого анализа входит расчет разработанных количественных показателей для более детального формирования заключения. Для оценки данных величин предложены условные единицы, так как в ходе разработки программных обеспечений возникали определенные сложности: разный масштаб изначально полученных статических кадров, разные условия получения эхографических изображений в зависимости от настроек аппарата, различные конституциональные особенности пациенток.

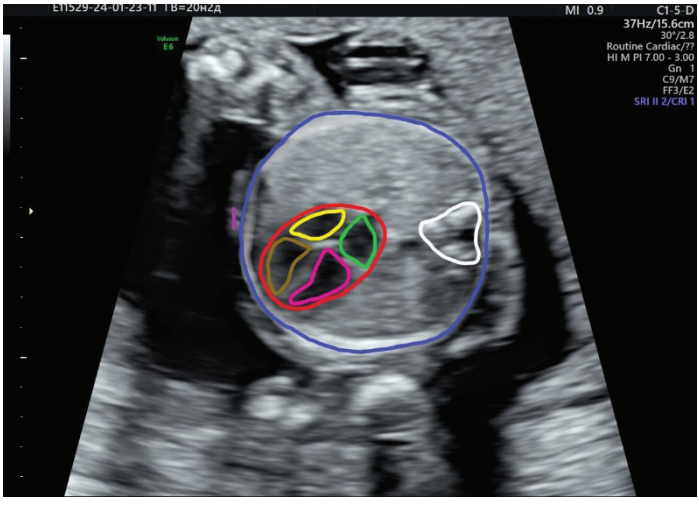


Рис.1.
Графическое выделение анатомических ориентиров в четырехкамерном срезе сердечно-сосудистой системы плода
Fig.1.
Graphical representation of anatomical landmarks in a four-chamber section of the fetal cardiovascular system

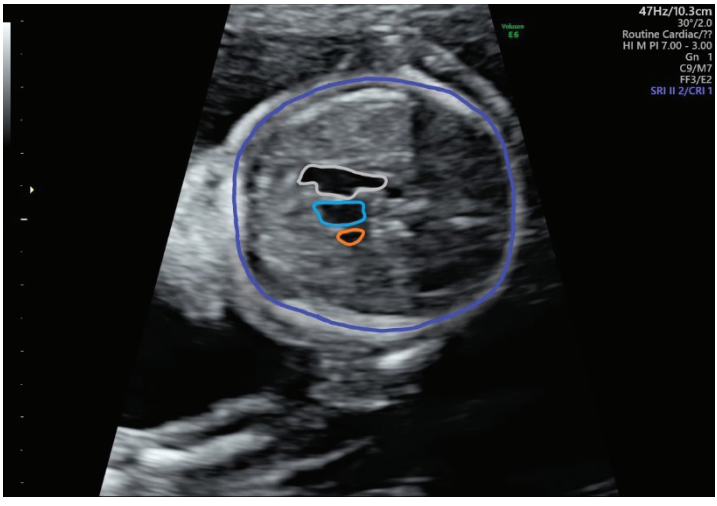


Рис.2.
Графическое выделение анатомических ориентиров в срезе через три сосуда сердечно-сосудистой системы плода
Fig.2.
Graphical representation of anatomical landmarks in a section through three vessels of the fetal cardiovascular system

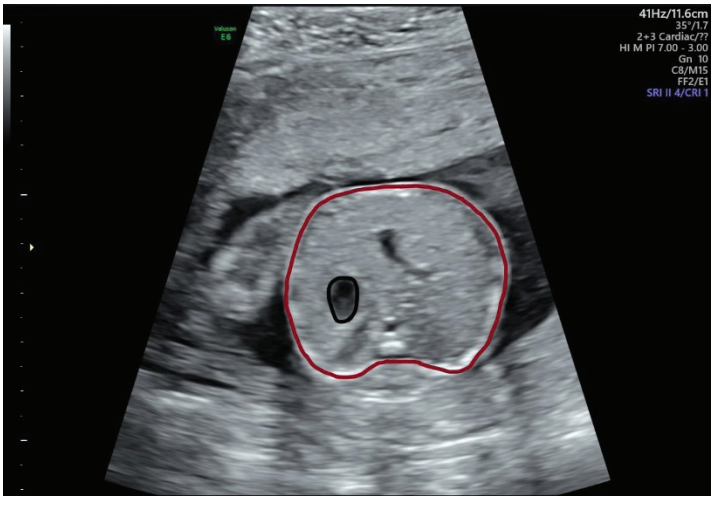


Рис.3.
Графическое выделение анатомических ориентиров в поперечно-абдоминальном срезе брюшной полости плода
Fig.3.
Graphical representation of anatomical landmarks in the transversal abdominal section of the abdominal cavity of the fetus

Результаты и обсуждения. В ходе работы было обработано более 3000 эхограмм с визуализацией сердечно-сосудистой системы в 3 срезах – четырехкамерном, срезе через три сосуда и поперечно-абдоминальном. При проведении исследования были разработаны следующие числовые показатели: коэффициент соотношения площади сердца к площади грудной полости, коэффициент соотношения правого и левого предсердия, коэффициент соотношения правого и левого желудочка, а также произведены измерения диаметров сосудов в срезе через три сосуда.

В функциональные возможности искусственного интеллекта включена разработанная методика нейросетевого анализа по принципу поэтапной оценки следующих параметров в четырехкамерном срезе: оценка размеров сердца, соотношение площади сердца плода к грудной полости (в норме не более 1\3 от площади грудной полости), оценка оси сердца (в норме от 30 до 600), оценка размеров предсердий и желудочков, оценка целостности и отсутствия дефектов в межжелудочковых перегородках [5]. Количественными показателями нейросетевого анализа – коэффициент соотношения сердца плода к грудной полости и коэффициенты соотношения камер сердца в условных единицах (у.е.). Данный алгоритм составлен согласно рекомендациям ISUOG и приказу № 1130 Н от 20.10.2022 года.

Разработанная методика нейросетевого анализа в срезе через три сосуда включает оценку следующих параметров: оценку наличия 3 сосудов (легочная артерия, аорта и верхняя полая вена), оценку расположения 3 сосудов в одну линию, оценку диаметров сосудов (в норме во второй половине беременности легочный ствол всегда больше аорты, а аорта больше верхней полой вены) для исключения развития различных конотрункальных аномалий [5].

Также для более точной диагностики врожденных пороков сердца и исключения патологии органов брюшной полости была разработана методика нейросетевого анализа в поперечно-абдоминальном срезе с оценкой следующих параметров: определение границ брюшной полости, определение границ желудка, оценка отсутствия дополнительных образований в брюшной полости.

В результате работы был проведен расчет показателей, необходимых для количественной оценки риска развития врожденного порока сердца плода с последующим анализом полученных данных. Измерения площадей анатомических структур проводились в условных единицах (у.е.). Соотношение площади сердца к площади грудной полости составил диапазон значений от 0,18 до 0,23 у.е., что соответствует тому, что в рассматриваемых эхографических снимках сердца плода занимает меньше 1\3 грудной полости. Данное значение было выявлено в 1246 случаях (93%). При разработки ИИ важной задачей являлся контроль за правильной и грамотной маркировкой изначально нативных эхографических снимков. Полученные данные числовые значения подтверждали достоверную маркировку эхографических изображений. Также полученные показатели использовались для усовершенствования нейросетевого анализа при формировании инструментального диагноза.

При этом в ходе исследования были получены значения 0,32 у.е. и выше (до 0,35 у.е.) у 72 плодов (5%). После исключения случаев некорректной маркировки, данные значения рассматривались и было установлено то, что сердце плода занимало больше 1\3 грудной полости. А в 20 случаях (2%) были обнаружены значения 0,15 и ниже (до 0,14). Данные случаи рассматривались пренатальным консилиумом для верификации инструментального диагноза.

Тестирование разработанных функциональных возможностей нейросетевого анализа проводилось с использованием статичных эхографических срезов как с нормальной ультразвуковой картиной, так и с патологически измененными анатомическими структурами (рис. 4,5,6,7).

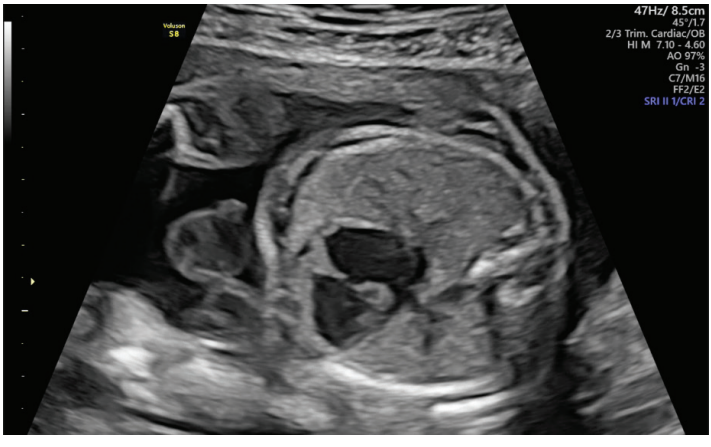


Рис.4.
Эхограмма плода в сроке 25 недель с ультразвуковыми признаками гипоплазии левых отделов сердца
Fig.4.
Echogram of the fetus at 25 weeks with ultrasound signs of hypoplasia of the left heart

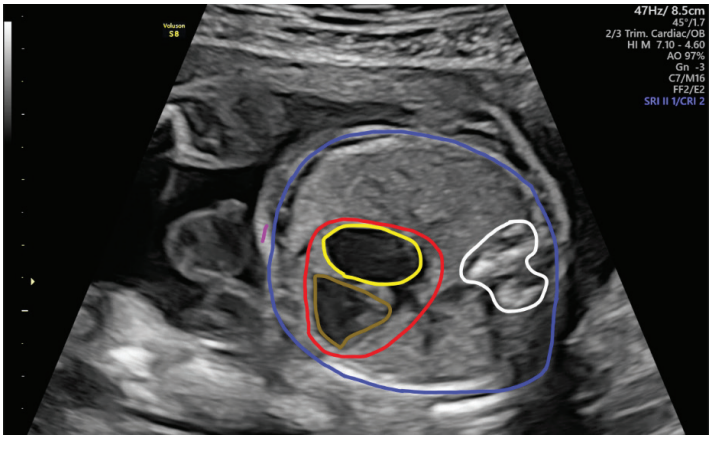


Рис.5.
Эхограмма плода в сроке 25 недель с ультразвуковыми признаками гипоплазии левых отделов сердца после маркировки искусственным интеллектом
Fig.5.
Echogram of the fetus at 25 weeks with ultrasound signs of hypoplasia of the left heart



Рис.6.
Эхограмма плода в сроке 27 недель с ультразвуковыми признаками дефекта межжелудочковой перегородки
Fig.6.
Fetal echogram at the age of 27 weeks with ultrasound signs of ventricular septal defect

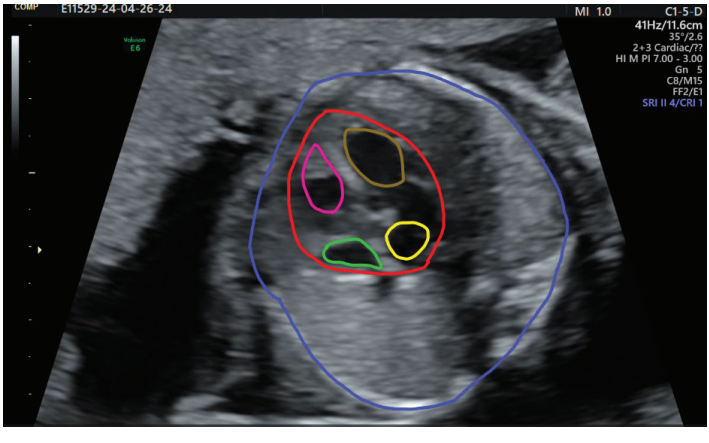


Рис.7.
Эхограмма плода в сроке 27 недель с ультразвуковыми признаками дефекта межжелудочковой перегородки после маркировки искусственным интеллектом
Fig.7.
An echogram of the fetus at the age of 27 weeks with ultrasound signs of an interventricular septal defect after marking with artificial intelligence

При нейросетевом анализе эхограммы с ультразвуковыми признаками гипоплазии левых отделов сердца и дефекта межжелудочковой перегородки сердца искусственный интеллект поставил «не норму».

В ходе проведения исследования были разработаны экспериментальные фрагменты интерфейса программного обеспечения в качестве протокола с рассчитанными показателями и оценкой заданных параметров (рис. 8). Планируется совершенствование разрабатываемой нейросети посредством непрерывного обучения в виде увеличения визуальной базы данных ультразвуковых снимков плода с нормальной эхографической картиной и с анатомическими измененными структурами.

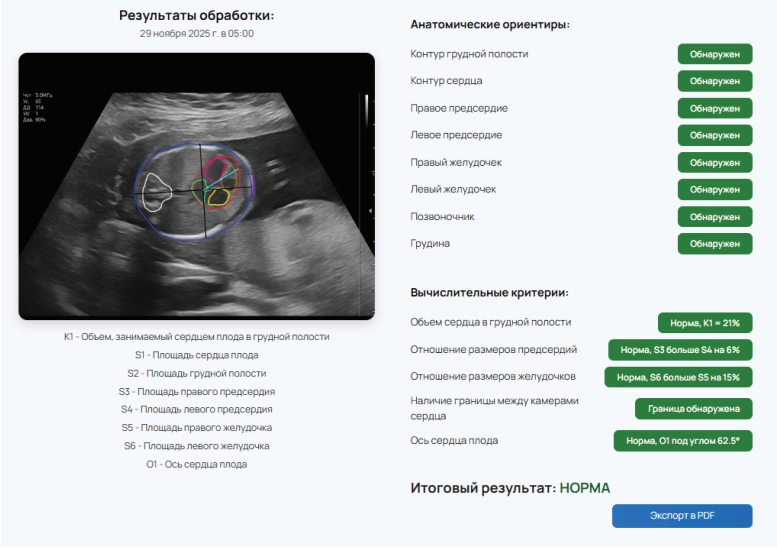


Рис.8.
Вид интерфейса разработанной программы нейросетевой обработки эхографического изображения с формированием инструментального диагноза в четырехкамерном срезе
Fig.8.
The interface of the developed program for neural network processing of an echographic image with the formation of an instrumental diagnosis in a four-chamber slice

Выводы. Возможности применения разработанных функциональных возможностей ИИ в оценке анатомических элементов сердечно-сосудистой системы плода во II и III триместрах беременности могут позволить усовершенствовать формирование инструментального диагноза и создать группы риска. Полученные данные после расчётов показателей площадей грудной полости и сердца, а также камер сердца могут быть использованы для более точного инструментального диагноза, а также произвести контроль за корректной маркировкой эхографических снимков. Полномасштабное использование всех возможностей и функций ИИ в ультразвуковой диагностике плода возможно при создании большой визуальной базы данных как эхографических снимков с нормальной анатомией всех структур организма, так и с патологической картиной. Применение искусственного интеллекта в диагностике врожденных пороков сердца

плода является перспективной задачей, требующей активного внедрения в работу лечебных учреждений родовспомогательного профиля.

Список литературы:

1. *Iftikhar P, Kuijpers MV, Khayyat A, Iftikhar A, DeGouvia De Sa M. Artificial Intelligence: A New Paradigm in Obstetrics and Gynecology Research and Clinical Practice. Cureus. 2020;12(2): e7124. DOI: 10.7759 /cureus.34891*
2. *Desai G.S. Artificial intelligence: the future of obstetrics and gynecology. Cureus. India. 2018, 68:326-7. 10.1007/s13224-018-1118-4 DOI: 10.1007/s13224-018-1118-4*
3. *Поморцев А.В., Редько А.Н., Барсукова Е.А., Матосян М.А., Дьяченко Ю.Ю., Дьяченко Р.А., Белоглядова И.А., Янаева М.В., Бабаян В.Т. Применение искусственного интеллекта в ультразвуковой диагностике пороков ЦНС плода в сроках гестации с 19 по 22 неделю беременности. Инновационная медицина Кубани. 2024; (2):42-47. https://doi.org/10.35401/2541-9897-2024-9-2-42-47*

   Pomortsev A.V., Redko A.N., Barsukova E.A., Matosyan M.A., Dyachenko Yu.Yu., Dyachenko R.A., Beloglyadova I.A., Yanaeva M.V., Babayan V.T. The use of artificial intelligence in the ultrasound diagnosis of fetal central nervous system defects during gestation from 19 to 22 weeks of pregnancy. Innovative medicine of Kuban. 2024;(2):42-47. https://doi.org/10.35401/2541-9897-2024-9-2-42-47
4. *Поморцев А.В, Карахалис М. Н., С. А. Матулевич. Пороки развития сердца плода: факторы риска и возможности ультразвукового метода при первом скрининге. Инновационная медицина Кубани. 2023. (4): 51-59. DOI 10.35401/2541-9897-2023-8-4-51-59*

   Pomortsev A.V, Karakhalis M. N., S. A. Matulevich. Poroki razvitiya serdtsa ploda: faktory riska i vozmozhnosti ul'trazvukovogo metoda pri pervom skrininge. Innovatsionnaya meditsina Kubani. 2023. T. 8, № 4. – S. 51-59. – DOI 10.35401/2541-9897-2023-8-4-51-59
5. *Ultrasound Obstet Gynecol 2023; 61: 788–803 Published online in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/uog.26224*

* * *

ЗА ПРЕДЕЛАМИ СТЕНОЗА: ИНТЕГРАЦИЯ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ МСКТ-КОРОНАРОГРАФИИ И ДИНАМИЧЕСКОЙ ОФЭКТ В ФЕНОТИПИРОВАНИИ СТАБИЛЬНОЙ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

Дашеева А.С.

Научно-исследовательский институт кардиологии,
Томский национальный исследовательский медицинский центр
Российской академии наук,
Томск, Россия

Предпосылки для исследования. Ишемическая болезнь сердца (ИБС) остаётся одной из ведущих причин сердечно-сосудистой заболеваемости и смертности, что определяет необходимость совершенствования её диагностики. Традиционная диагностика ИБС в виде оценки степени стеноза коронарных артерий не позволяет полноценно характеризовать распространённость и состав коронарного атеросклероза (КАС) и не исключает ишемию при необструктивном поражении. Перспективным является сочетание количественной МСКТ-коронарографии, отражающей объём и структуру атеросклеротических бляшек (АБ), и динамической однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ) миокарда, позволяющей оценить миокардиальный кровоток (МК) и коронарный резерв (КР). Однако, данные об интеграции этих методов для оценки функциональной значимости КАС в литературе ограничены.

Цель. У пациентов со стабильной ИБС сравнить количественные показатели КАС по данным МСКТ-КГ на фоне обструктивного и необструктивного поражения коронарных артерий и оценить их связь с МК и КР по данным динамической ОФЭКТ миокарда.

Материал и методы. По данным МСКТ-КГ анализировали степень стеноза, общий объём АБ, мягкотканный и кальцинированный компоненты, по данным динамической ОФЭКТ – стресс-МК и КР. Проводили сравнительный, корреляционный и многофакторный анализ.

Результаты и обсуждение. Включены 100 пациентов: НОКА – 60, ОКА – 40. Анализ межоператорской воспроизводимости продемонстрировал высокую согласованность измерений: значения коэффициента внутриклассовой корреляции для общего объёма АБ, мягкотканного и кальцинированного компонентов составили 0,93, 0,91 и 0,89. При ОКА общий объём АБ был выше, чем при НОКА: 238 [195-286] против 142 [98-181] мм³ ($p<0,001$), как и объём мягкотканного компонента: 128 [96-162] против 76 [54-103] мм³ ($p<0,001$). Стресс-МК и КР были ниже при ОКА: 1,42±0,38 против 1,71±0,41 мл/мин/г и 2,08±0,52 против 2,47±0,61 ($p<0,001$). У 29% пациентов с НОКА стресс-МК был <1,5 мл/мин/г, у 34% КР – <2,0. КР сильнее коррелировал с мягкотканным компонентом ($r= -0,51$; $p<0,001$) и общим объёмом бляшек ($r= -0,46$; $p<0,001$), чем с максимальным стенозом ($r= -0,29$; $p=0,01$). Мягкотканный компонент сохранял независимую связь со снижением КР ($\beta= -0,38$; $p<0,001$), в отличие от стеноза ($\beta= -0,12$; $p=0,21$).

Выводы. Интеграция количественной МСКТ-КГ и динамической ОФЭКТ позволяет перейти от оценки степени стеноза к анатомо-функциональному фенотипированию стабильной ИБС и более точному выявлению функционально значимого КАС.

Источник финансирования. ФНИ FGWM-2022-0008

Предпосылки для исследования. Ишемическая болезнь сердца (ИБС) остаётся одной из ведущих причин сердечно-сосудистой заболеваемости и смертности [1]. Одной из ключевых задач современной кардиологии является раннее выявление пациентов высокого риска и функционально значимого коронарного атеросклероза (КАС) до развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий.

Традиционный подход к диагностике ИБС преимущественно основан на выявлении гемодинамически значимого стеноза коронарных артерий (КА). Однако, степень стеноза не отражает общий объём и состав атеросклеротических бляшек (АБ), состояние микрососудистого русла и функциональный резерв коронарного кровообращения. а отсутствие стеноза ≥50% не исключает ишемию миокарда [2], что подчёркивает ограниченность стеноз-ориентированного подхода. В связи с этим современная диагностика ИБС требует перехода от вопроса о наличии стеноза к оценке функциональной значимости нарушения коронарного кровообращения.

Мультиспиральная компьютерно-томографическая коронарография (МСКТ-КГ) является основным неинвазивным методом для оценки анатомии КА. Кроме того, данный метод позволяет количественно оценить объём и компонентный состав АБ, в частности долю мягкотканных, низкоплотных и кальцинированных компонентов [3]. Функциональным дополнением к анатомической оценке является динамическая однофотонная эмиссионная компьютерная томография миокарда (ОФЭКТ), позволяющая количественно определить миокардиальный кровоток (МК) в покое и при нагрузке, а также коронарный резерв (КР) [4].

Однако, работ по изучению и возможностях интеграции количественной МСКТ-КГ и динамической ОФЭКТ на данный момент не представлено в литературе.

Цель работы. У пациентов со стабильной ИБС сравнить количественные показатели коронарного атеросклероза по данным МСКТ-КГ на фоне обструктивного и необструктивного поражения коронарных артерий и оценить их связь с миокардиальным кровотоком и коронарным резервом по данным динамической ОФЭКТ миокарда.

Материал и методы. В исследование включены пациенты со стабильной ИБС. Всем пациентам выполняли клинико-лабораторное обследование, МСКТ-КГ и динамическую ОФЭКТ миокарда.

МСКТ-коронарография. МСКТ-КГ выполняли на 64-срезовом компьютерном томографе GE Healthcare Revolution Evo с ЭКГ-синхронизацией и внутривенным введением йодсодержащего контрастного препарата. Постпроцессинговую обработку проводили на рабочей станции Advantage Workstation 4.7. В зависимости от максимальной степени стеноза пациентов разделяли на группы с необструктивным поражением КА (НОКА, <50%) и с обструктивным (ОКА, ≥50%).

Количественный анализ КАС выполняли с использованием программного обеспечения PlaqID пакета CardIQ Xpress 2.0 Reveal. Определяли общий объем атеросклеротических бляшек (АБ), объем кальцинированных и некальцинированных компонентов, включая низкоплотный, фиброзно-жировой и фиброзный компоненты, а также их бремя. Показатели рассчитывали по основным КА и для всего коронарного русла.

Динамическая ОФЭКТ миокарда. Исследование выполняли на компьютерном томографе GE Healthcare Discovery NM/CT 570c по двухдневному протоколу «покой-нагрузка» с 99mTc-МИБИ и фармакологической нагрузкой аденозинтрифосфатом. Постпроцессинговую обработку проводили с использованием программ 4DM Reserve

2.0 и Corridor 4DM SPECT. Определяли МК в покое и при нагрузке, КР, а также полуколичественные показатели перфузии SSS, SRS и SDS.

Статистический анализ. Статистическую обработку выполняли в программах STATISTICA и JASP. Количественные данные представляли в зависимости от распределения как среднее значение и стандартное отклонение либо медиану и межквартильный интервал, качественные – абсолютными и относительными частотами. Для межгрупповых сравнений применяли параметрические или непараметрические критерии, для анализа взаимосвязей – корреляционный и многофакторный регрессионный анализ. Межоператорскую воспроизводимость количественного анализа оценивали на части исследований с использованием коэффициента внутриклассовой корреляции (ICC), диагностическую информативность – с помощью ROC-анализа. Статистически значимыми считали различия при $p<0,05$.

Результаты и обсуждение. В исследование включены 100 пациентов со стабильной ИБС: 60 – НОКА, и 40 – ОКА. Группы были сопоставимы по возрасту, полу и большинству клинико-анамнестических факторов риска, за исключением сахарного диабета 2 типа, преобладающего у группы ОКА ($p<0,005$). Клинико-демографическая характеристика пациентов представлена в таблице 1.

Таблица 1.

Клинико-демографическая характеристика пациентов

	НОКА, n=60	**ОКА, n=40**	**p-value**
Мужской пол, n (%)	34 (55%)	28 (40%)	0,413
Возраст, Me (Q25; Q75)	57 (54;66)	59 (54;67)	0,601
Артериальная гипертензия, n (%)	53 (85%)	25 (75%)	0,066
Дислипидемия, n (%)	34 (55%)	18 (41%)	0,512
Ожирение, n (%)	24 (38%)	17 (41%)	0,085
Отягощенная наследственность по ССЗ, n (%)	45 (75%)	30 (80%)	0,637
Курение, n (%)	19 (32%)	20 (50%)	0,834
Сахарный диабет 2 типа, n (%)	1 (6%)	8 (8%)	**<0,005**

Примечание: Me – медиана, n – количество, p-value – статистическая значимость, ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

Количественный анализ КАС по данным МСКТ-КГ характеризовался высокой межоператорской воспроизводимостью. Наиболее высокие значения ICC были получены для общего объёма АБ и мягкотканного компонента (табл.2).

Таблица 2.

Межоператорская воспроизводимость количественного анализа МСКТ-КГ

Показатель	ICC	95% ДИ
Общий объём коронарных бляшек	0,93	0,88 – 0,96
Мягкотканный компонент	0,91	0,85 – 0,95
Кальцинированный компонент	0,89	0,82 – 0,94

Примечание: ICC – коэффициент межклассовой корреляции, ДИ – доверительный интервал

По данным МСКТ-КГ пациенты с ОКА имели более выраженную атеросклеротическую нагрузку (рис. 1). Общий объём АБ в группе ОКА составил 238 [195–286] мм³, тогда как в группе НОКА – 142 [98–181] мм³, p<0,001. Наиболее выраженные различия между группами касались мягкотканного компонента бляшек: его объём был значительно выше при ОКА – 128 [96–162] мм³ против 76 [54–103] мм³ при НОКА (p<0,001). Различия по кальцинированному компоненту статистически значимо не различались (p=0,04).

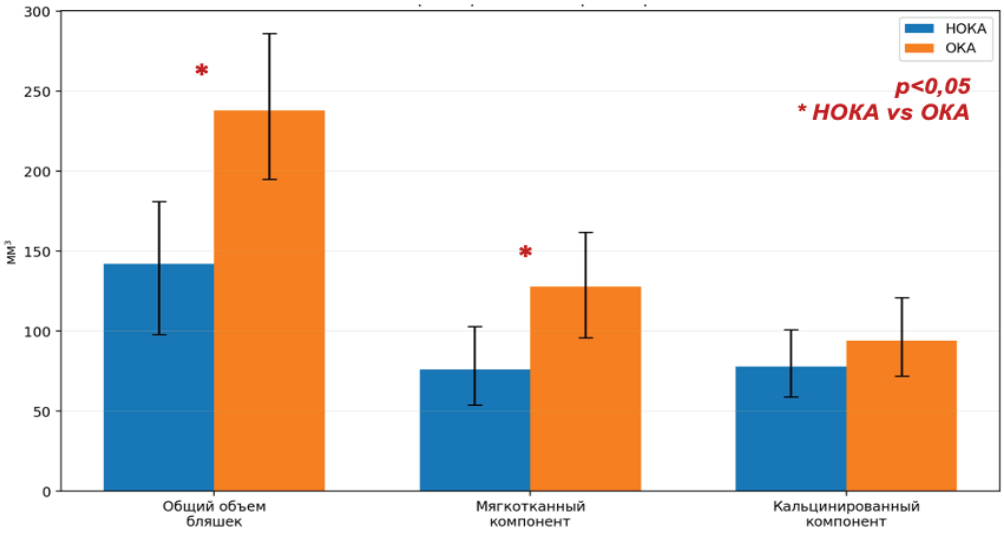


Рис.1.
Сравнение количественных показателей атеросклеротических бляшек

*Примечание: p – статистическая значимость, * – статистически значимое различие*

Доля низкоплотных АБ, рассматриваемых как маркер активного атеросклеротического процесса, также была выше в группе ОКА: 18,6±6,4% против 12,3±5,1% (p<0,001). При этом низкоплотные АБ выявлялись у 41% пациентов с НОКА, что указывает на морфологическую неоднородность необструктивного КАС.

По данным динамической ОФЭКТ пациенты с ОКА характеризовались более выраженным более выраженными функциональными нарушениями коронарного кровообращения. Стресс-МК был ниже в группе ОКА по сравнению с НОКА: 1,42±0,38 против 1,71±0,41 мл/мин/г (p<0,001). КР также был достоверно ниже при ОКА: 2,08±0,52 против 2,47±0,61 (p<0,001). При этом, функционально значимые нарушения выявлялись и у пациентов с НОКА: снижение стресс-МК <1,5 мл/мин/г – у 29%, а снижение КР <2,0 – у 34% (p<0,005) (рис.2).

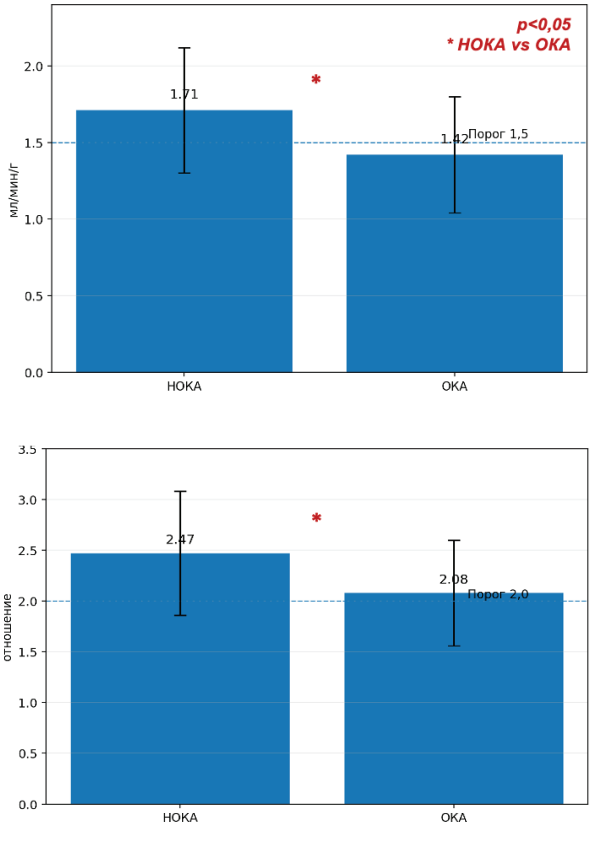


Рис.2.
Сравнение количественных показателей миокардиального кровотока на нагрузке и коронарного резерва

*Примечание: p – статистическая значимость, * – статистически значимое различие*

Корреляционный анализ показал, что КР был больше связан с количественными показателями АБ, чем с максимальной степенью стеноза (табл.3). Наиболее выраженная отрицательная связь выявлена между КР и объёмом мягкотканного компонента. Связь с общим объёмом АБ также была значимой (p<0,001). Ассоциация КР с максимальным процентом стеноза была слабее: r= −0,29, p=0,01.

В многофакторной регрессионной модели, скорректированной на возраст, пол и уровень липопротеинов низкой плотности, объём мягкотканного компонента сохранял независимую ассоциацию со снижением КР: β= −0,38, p<0,001 (табл. 3). При этом степень стеноза не являлась независимым предиктором функциональных нарушений.

Таблица 3.

Взаимосвязь анатомических показателей с коронарным резервом

Количественный показатель КАС	r с КР	p	β*	p*
Мягкотканный компонент	−0,51	<0,001	−0,38	<0,001
Общий объём АБ	−0,46	<0,001	–	–
Максимальная степень стеноза	−0,29	0,01	−0,12	0,21

*Примечание: r − коэффициент корреляци, p – статистическая значимость, β − коэффициент многофакторной регрессионной модели, скорректированной на возраст, пол и уровень холестерина липопротеинов низкой плотности, * − показатели многофакторной модели, АБ − атеросклеротические бляшки*

Добавление количественных параметров бляшек к модели, включающей клинические факторы и степень стеноза, улучшало выявление сниженного КР: ΔAUC=+0,09, p=0,003 (рис.3).

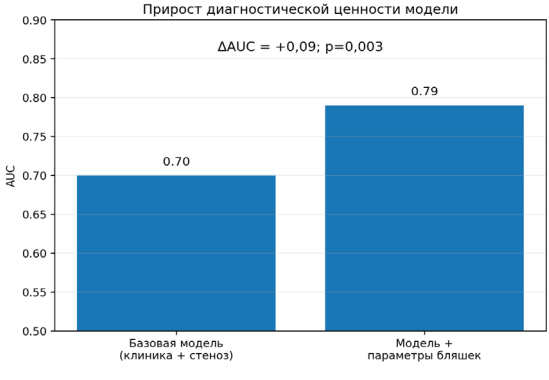


Рис.3.
Прирост диагностической ценности модели

Примечание: ΔAUC – площадь под ROC-кривой, p – статистическая значимость

Полученные данные показывают, что функциональное состояние коронарного русла при стабильной ИБС определяется не только выраженностью локального стеноза, но и количественными характеристиками атеросклеротического поражения.

Выявление нарушений стресс-МК и КР у части пациентов с НОКА указывает на ограниченность оценки заболевания исключительно по степени сужения просвета КА. Более тесная связь КР с объёмом и мягкотканным компонентом АБ по сравнению с максимальной степенью стеноза дополнительно подчёркивает значение комплексной характеристики атеросклеротической нагрузки. В этом контексте динамическая ОФЭКТ дополняет данные МСКТ-КГ функциональной оценкой коронарного кровообращения, формируя основу для интегрированного анатомо-функционального подхода.

Ограничениями исследования являются одноцентровый дизайн, ретроспективно-проспективный характер формирования групп и отсутствие длительного наблюдения за клиническими исходами.

Заключение. Интеграция количественной МСКТ-КГ и динамической ОФЭКТ расширяет возможности неинвазивной оценки стабильной ИБС и позволяет перейти от изолированной характеристики степени стеноза к анатомо-функциональному фенотипированию КАС. Данный подход может способствовать более точному выявлению функционально значимого поражения коронарного русла и совершенствованию стратификации риска.

Источник финансирования. ФНИ FGWM-2022-0008

Список литературы:

1. *Vaduganathan M, Mensah GA, Turco JV, et al. The Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk: A Compass for Future Health. J Am Coll Cardiol. 2022;80(25):2361–2371. doi:10.1016/j.jacc.2022.11.005.*
2. *Барбараш ОЛ, Карпов ЮА, Панов АВ и др. Стабильная ишемическая болезнь сердца. Клинические рекомендации 2024. Российский кардиологический журнал. 2024;29(9):6110. doi:10.15829/1560-4071-2024-6110.*
3. *Mézquita V, Biavati F, Falk V, et al. Clinical quantitative coronary artery stenosis and coronary atherosclerosis imaging: a Consensus Statement from the Quantitative Cardiovascular Imaging Study Group. Nat Rev Cardiol. 2023;20:696–714. doi:10.1038/s41569-023-00880-4.*
4. *Agostini D, Roule V, Nganoa C, et al. First validation of myocardial flow reserve assessed by dynamic 99mTc-sestamibi CZT-SPECT camera: head-to-head comparison with 15O-water PET and fractional flow reserve in patients with suspected coronary artery disease. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2018;45(7):1079–1090. doi:10.1007/s00259-018-3958-7.*

* * *

ОСОБЕННОСТИ СОПРЯЖЁННОСТИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО И МЕМБРАННОГО МЕТАБОЛИЗМА В ГЛИОМАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПО ДАННЫМ ФОСФОРНОЙ МР-СПЕКТРОСКОПИИ

Елагина Н.Е.

Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко, Москва

Предпосылки для исследования. Фосфорная МР-спектроскопия позволяет одновременно оценивать содержание метаболитов: фосфокреатина (PCr), неорганического фосфата (Pi), фосфомоноэфиров (PME) и фосфодиэфиров (PDE). Отдельные метаболиты или их отношения отражают различные аспекты метаболизма опухоли, в частности, энергетический и мембранный обмен. Анализ взаимосвязи энергетических и мембранных показателей может выявить особенности опухолевого метаболизма, не обнаруживаемые при их изолированном сравнении.

Цель. Оценить характер взаимосвязи энергетического метаболизма и мембранного обмена в глиомах головного мозга и у здоровых добровольцев по данным фосфорной МР-спектроскопии.

Материалы и методы. В исследование включены 48 пациентов с глиомами головного мозга: 14 с глиомами низкой степени злокачественности (LGG) и 34 — высокой степени злокачественности (HGG), а также 26 здоровых добровольцев. Фосфорную спектроскопию выполняли на МР-томографе 3 Тл с использованием двойной $^{1}H/^{31}P$-катушки. Оценивали отношение PCr/Pi как показатель энергетического состояния и PME/PDE как показатель баланса мембранного обмена. Количественный анализ проводили по амплитуде (AMP). Использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена, прямое сравнение коэффициентов корреляции и поправку Холма на множественные сравнения.

Результаты и обсуждение. Изолированное сравнение метаболических индексов не выявило статистически значимых различий между здоровыми добровольцами, LGG и HGG: для PME/PDE значения p во всех межгрупповых сравнениях составляли ≥0,187, для PCr/Pi — ≥0,479. При корреляционном анализе в общей группе пациентов с глиомами выявлена умеренная положительная взаимосвязь PCr/Pi и PME/PDE (ρ=0,478; 95% BCa ДИ 0,175–0,689; p=0,00060), также статистически значимая положительная корреляция определялась в группе HGG (ρ=0,545; 95% BCa ДИ 0,190–0,765; p=0,00087). Обе ассоциации сохраняли статистическую значимость после поправки Холма. У здоровых добровольцев (ρ=0,295; p=0,144) и пациентов с LGG (ρ=0,163; p=0,578) статистически значимых корреляций не выявлено. При этом прямое сравнение коэффициентов корреляции между исследуемыми группами статистически значимых различий не показало.

Заключение. В общей группе глиом и HGG выявлена положительная взаимосвязь PCr/Pi и PME/PDE при отсутствии значимых межгрупповых различий самих индексов. Прямое сравнение коэффициентов корреляции межгрупповых различий не подтвердило. Анализ сопряжённости метаболических показателей может дополнять их изолированную оценку.

Предпосылки для исследования. Метаболические изменения являются одним из ключевых компонентов биологии глиальных опухолей. Наряду с перестройкой энергетических путей интенсивная пролиферация требует постоянного синтеза и ремоделирования клеточных мембран. Таким образом, энергетический и фосфолипидный обмен представляют функционально связанные звенья опухолевого метаболизма.

^{31}P-МР-спектроскопия (^{31}P-МРС) позволяет неинвазивно исследовать несколько сторон клеточного метаболизма в одном исследовании. PCr и Pi отражают состояние фосфатного энергетического обмена, тогда как PME включают преимущественно предшественники синтеза фосфолипидов, а PDE — продукты их распада. Изменения этих метаболитов и их отношений ранее показаны при глиомах и при сопоставлении опухолевой ткани с нормальным мозгом [1–3].

Большинство исследований сосредоточено на сравнении отдельных метаболитов и их отношений. Значительно менее изучена взаимосвязь энергетического и мембранного метаболизма и её особенности при различной степени злокачественности. Анализ структуры этих взаимосвязей может дать дополнительную информацию о метаболической организации опухоли.

В данной работе для оценки энергетического состояния использовали PCr/Pi, для характеристики мембранного обмена — PME/PDE. Эти показатели не содержат общего метаболита, что снижает вероятность искусственной корреляции, обусловленной математической конструкцией отношений.

Цель. Оценить характер взаимосвязи энергетического метаболизма и мембранного обмена в глиомах головного мозга различной степени злокачественности и у здоровых добровольцев по данным ^{31}P-МР-спектроскопии.

Материал и методы. Проведено одноцентровое сравнительное исследование. В исходную выборку вошли 48 пациентов с глиальными опухолями головного мозга, из них 14 пациентов с LGG и 34 с HGG, а также 26 здоровых добровольцев.

^{31}P-МР-спектроскопию выполняли на МР-томографе с напряжённостью магнитного поля 3 Тл с использованием двойной ^{1}H/^{31}P-катушки. Выбор зоны интереса осуществляли по Т2-взвешенным изображениям. Постобработку спектров выполняли в программном обеспечении SAGE. Оценивали сигналы PME, PDE, Pi, PCr и аденозинтрифосфата. В качестве основного энергетического индекса использовали PCr/Pi, в качестве показателя мембранного обмена — PME/PDE.

Количественные отношения рассчитывали на основании амплитуд соответствующих спектральных пиков. В связи с асимметричным распределением ряда метаболических показателей применяли непараметрические статистические методы. Взаимосвязь между PCr/Pi и PME/PDE оценивали с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена (ρ) отдельно у здоровых добровольцев, во всей группе пациентов с глиомами, а также в подгруппах LGG и HGG. Для оценки различий характера взаимосвязи между группами проводили прямое сравнение коэффициентов корреляции с определением разности Δρ и 95% доверительного интервала. При множественных сравнениях применяли поправку Холма. Различия считали статистически значимыми при $p<0,05$.

Результаты и обсуждение. Изолированный анализ метаболических индексов по АМР не выявил статистически значимых межгрупповых различий: для PME/PDE значения p во всех сравнениях составляли ≥0,187, для PCr/Pi — ≥0,479. Таким образом, сами показатели не позволяли разделить здоровых добровольцев, LGG и HGG.

При анализе взаимосвязи PCr/Pi и PME/PDE в общей группе пациентов с глиомами выявлена положительная корреляция (ρ=0,478; 95% BCa ДИ 0,175…0,689), наиболее выраженная в HGG (ρ=0,545; 95% BCa ДИ 0,190–0,765). Обе корреляции сохраняли статистическую значимость после поправки Холма. У здоровых добровольцев и пациентов с LGG значимых связей не выявлено.

Таблица 1.

Корреляция PCr/Pi и PME/PDE в исследуемых группах

Группа	n	ρ Spearman	95% BCa bootstrap CI
Добровольцы	26	0,295	−0,123…0,637
Все глиомы	48	**0,478**	**0,175…0,689**
LGG	14	0,163	−0,509…0,714
HGG	34	**0,545**	**0,190…0,765**

Распределения PCr/Pi и PME/PDE в группах значительно перекрывались, статистически значимых межгрупповых различий не выявлено.

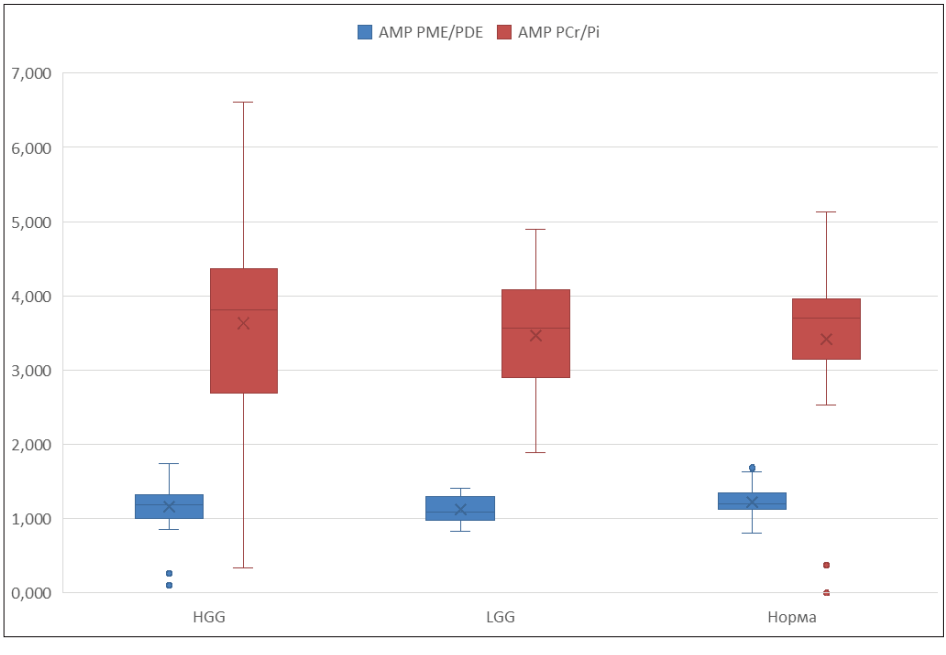


Рис.1.
Распределение показателей энергетического и мембранного метаболизма у пациентов с глиомами различной степени злокачественности и здоровых добровольцев

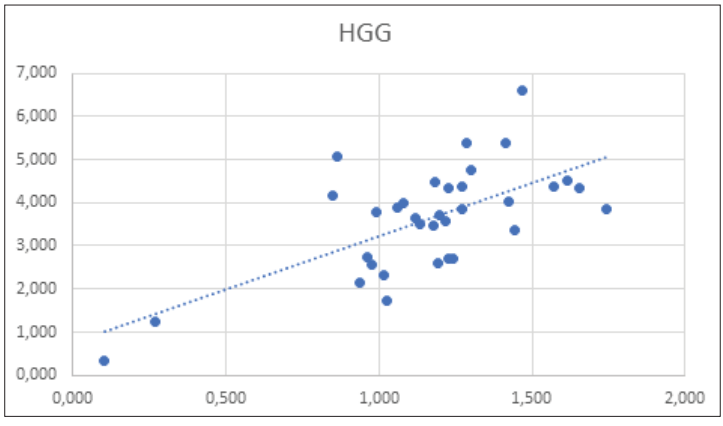


Рис.2.
Взаимосвязь показателей энергетического и мембранного метаболизма у пациентов с глиомами высокой степени злокачественности

Таким образом, дополнительная информация может заключаться не только в значениях отдельных метаболических показателей, но и в характере их совместного изменения.

PCr характеризует резерв быстро доступных высокоэнергетических фосфатов, тогда как Pi отражает пул неорганического фосфата, вовлечённого в энергетический обмен; поэтому отношение PCr/Pi может рассматриваться как интегральный показатель энергетического состояния клетки [1–3]. PME и PDE, в свою очередь, преимущественно отражают процессы синтеза и деградации мембранных фосфолипидов. Биологическая взаимосвязь этих процессов закономерна, поскольку поддержание и ремоделирование клеточных мембран, особенно в условиях активной пролиферации, требует энергетического обеспечения.

Ранее была показана диагностическая значимость изменений энергетических и мембранных фосфорсодержащих метаболитов при глиомах [1–3], а сопоставление ^{31}P-МРС с ^{18}F-ФДГ ПЭТ продемонстрировало связь показателей фосфорного энергетического обмена с метаболической активностью опухоли [2]. В настоящей работе объектом анализа являлись не отдельные метаболические показатели, а характер их совместного изменения.

Основным результатом стало выявление положительной взаимосвязи PCr/Pi и PME/PDE в общей группе глиом, наиболее выраженной в HGG. При этом сами значения PCr/Pi и PME/PDE статистически значимо не различались между здоровыми добровольцами, LGG и HGG. Таким образом, особенности метаболизма опухоли могут проявляться не только изменением отдельных спектроскопических показателей, но и характером их сопряжённости. Положительная корреляция в HGG может отражать более тесную координацию энергетического обеспечения и мембранного обмена в условиях высокой пролиферативной активности и повышенной потребности опухолевых клеток в энергетических и пластических ресурсах.

Полученные результаты показывают потенциальную ценность анализа взаимосвязей метаболитов как дополнения к традиционному сравнению отдельных показателей ^{31}P-МРС. Такой подход позволяет рассматривать опухолевый метаболизм как систему взаимодействующих энергетических и мембранных процессов и может быть особенно перспективен при изучении метаболически гетерогенных глиом.

Основными ограничениями исследования являются небольшой размер выборки, прежде всего группы LGG, отсутствие молекулярно-генетической стратификации и ограниченная статистическая мощность для выявления различий непосредственно между коэффициентами корреляции. Полученные результаты требуют подтверждения в более крупных выборках.

Заключение. ^{31}P-МР-спектроскопия позволяет оценивать не только отдельные показатели энергетического и мембранного обмена, но и характер их сопряжённости. В общей группе пациентов с глиомами и в HGG выявлена положительная взаимосвязь PCr/Pi и PME/PDE при отсутствии статистически значимых межгрупповых различий самих метаболических индексов. Прямое сравнение коэффициентов корреляции межгрупповых различий не подтвердило. Полученные данные указывают на потенциальную дополнительную ценность анализа сопряжённости метаболических показателей при глиомах и необходимость дальнейшего изучения сопряжённости энергетического и мембранного обмена при глиомах.

Список литературы:

1. *Peter S.B., Nandhan V.R. 31-Phosphorus Magnetic Resonance Spectroscopy in Evaluation of Glioma and Metastases in 3T MRI. // Indian J Radiol Imaging. 2022;31(4):873–881. doi:10.1055/s-0041-1741090.*
2. *Pronin I.N., Batalov A.I., et al. Phosphorus MR spectroscopy and PET/CT with 18F-FDG in study of energy metabolism of glial tumors. // Zh Vopr Neirokhir Im N N Burdenko. 2021;85(2):26–33. doi:10.17116/neiro20218502126.*
3. *Walchhofer L.M., Steiger R., Rietzler A., et al. Phosphorous Magnetic Resonance Spectroscopy to Detect Regional Differences of Energy and Membrane Metabolism in Naïve Glioblastoma Multiforme. // Cancers (Basel). 2021;13(11):2598. doi:10.3390/cancers13112598.*

* * *

СРАВНЕНИЕ ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ТОЧНОСТИ БИПАРАМЕТРИЧЕСКОЙ И МУЛЬТИПАРАМЕТРИЧЕСКОЙ МРТ ПРЕДСАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ОТНОСИТЕЛЬНО ДАННЫХ ФЬЮЖН БИОПСИИ

Заводова А.А.

Медицинский научно-образовательный институт
Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова,
Москва

Предпосылки к проведению исследования. В настоящее время рак предстательной железы (РПЖ) сохраняет лидирующие позиции в структуре общемировой мужской смертности. Для оценки степени злокачественности изменений в паренхиме простаты используется система PI-RADS, применяемая для мультипараметрической МРТ (мпМРТ) органов малого таза с контрастированием, так как именно этот метод обеспечивает наиболее качественную визуализацию ткани предстательной железы. Однако в последние годы сообщается, что бесконтрастная бипараметрическая МРТ (бпМРТ) обладает сравнительной с мпМРТ диагностической точностью в выявлении РПЖ, а также обладает рядом преимуществ, таких как исключение потенциальных побочных эффектов контрастных препаратов, сокращение времени и стоимости сканирования. Тем не менее, для подтверждения диагноза РПЖ необходимо проведение биопсии. Одним из наиболее перспективных ее методов является фьюжн-биопсия, суть которой заключается в заборе биоптатов из таргетных очагов при совмещении МР- и УЗ-изображений.

Цель. Провести сравнительный анализ заключений мпМРТ с бпМРТ в соответствии с данными фьюжн-биопсии и определить их диагностическую точность.

Материалы и методы. Проведен сравнительный анализ мпМРТ, бпМРТ и заключений фьюжн-биопсии 32 пациентов 62,5 ± 14,5 лет с подозрением на РПЖ, проходивших комплексное обследование в Университетской клинике МГУ. Также вычислены параметры диагностической точности обоих методик МРТ предстательной железы.

Результаты и обсуждение. Чувствительность бпМРТ и мпМРТ составила соответственно 88,89% и 94,44%, специфичность бпМРТ и мпМРТ – 78,57% и 71,84%. Диагностическая точность методик МРТ не различалась и составила 84,38%. Полученное значение p=1,000 по критериям Мак-Немара и с помощью биномиального теста соответствует тому, что диагностические параметры для обеих методик МРТ являются статистическими незначимыми.

Выводы. На основании полученных данных можно сделать предположение, что при подозрении на РПЖ МРТ органов малого таза допустимо выполнять без внутривенного контрастирования, однако для более корректных данных в дальнейшей работе необходимо расширить выборку.

Источник финансирования. Нет

Предпосылки к проведению исследования. В настоящее время рак предстательной железы (РПЖ) сохраняет лидирующие позиции в структуре общемировой мужской смертности. Для оценки степени злокачественности изменений в паренхиме простаты используется система PI-RADS, применяемая для мультипараметрической МРТ (мпМРТ) органов малого таза с контрастированием, так как именно этот метод

обеспечивает наиболее качественную визуализацию ткани предстательной железы. Однако в последние годы сообщается, что бесконтрастная бипараметрическая МРТ (бпМРТ) обладает сравнительной с мпМРТ диагностической точностью в выявлении РПЖ. Тем не менее, для подтверждения диагноза РПЖ необходимо проведение биопсии. Одним из наиболее перспективных ее методов является фьюжн-биопсия, суть которой заключается в заборе биоптатов из таргетных очагов при совмещении МР- и УЗ-изображений.

Цель. Провести сравнительный анализ заключений мпМРТ с бпМРТ в соответствии с данными фьюжн-биопсии и определить их диагностическую точность.

Материалы и методы. Исследование было проведено с использованием МР-томографов Magnetom Avanto (1,5 Тл) и Magnetom Vida (3 Тл). В процессе исследования использовался контрастный препарат Гадодиамид. Сканирование проводили по стандартному протоколу отделения лучевой диагностики и цифровых медицинских технологий ФФМ МГУ, включающие в себя Т2-ВИ в 3 ортогональных плоскостях с выполнением тонких срезов и уменьшенного размера поля, диффузионно-взвешенные изображения (ДВИ) с 3 значениями b-фактора (50, 800, 1200 с/мм2) с построением карт измеряемого коэффициента диффузии (ИКД), преконтрастные Т1-ВИ в аксиальной плоскости с жироподавлением, Т1-ВИ STIR в корональной плоскости, Т1-ВИ с динамическим контрастированием с временным интервалом между сериями 15 сек и постконтрастные Т1-ВИ.

В исследование включали данные пациентов, которые проходили комплексное обследование в Медицинском научно-образовательном институте МГУ (Москва) с подозрением на рак простаты в период с 1 января 2022 по 31 декабря 2024 г.

Критерии включения в выборку: пациенты с верифицированной аденокарциномой или железистой гиперплазией предстательной железы методом фьюжн-биопсии; наличие изображений МРТ органов малого таза, полученных при первичной диагностике до выполнения фьюжн-биопсии. Критерии невключения: артефакты на изображениях МРТ.

Критерии исключения: не запланированы.

После этого проводилась ретроспективная независимая и разнесенная по времени оценка изменений предстательной системе PI-RADS v2.0 двумя рентгенологами по методике бпМРТ – без оценки контрастных серий (Т2-ВИ, ДВИ, ИКД-карты), и по методике мпМРТ – с оценкой контрастирования ткани железы. Далее проводился подсчет диагностических параметров обеих методик в сравнении с результатами фьюжн-биопсии, статистический анализ полученных данных.

Статистический анализ проводили при помощи пакета программ IBM SSP. Результаты, соответствующие нормальному распределению, представляли в виде среднего ± стандартное отклонение (M±SD). Корреляционный анализ проводился с использованием критерия Спирмена. Статистически значимыми считались различия при $p<0,05$.

Результаты и обсуждение. Проведен сравнительный анализ мпМРТ, бпМРТ и заключений фьюжн-биопсии 32 пациентов 62,5 ± 14,5 лет с подозрением на РПЖ, проходивших комплексное обследование в Университетской клинике МГУ. Также вычислены параметры диагностической точности обоих методик МРТ предстательной железы (Таблица 1).

Таблица 1.

Расчеты диагностических параметров бпМРТ и мпМРТ

Параметры	бпМРТ	мпМРТ
ИП	50% (n=16)	53,125% (n=17)
ЛП	9,375% (n=3)	12,5% (n=4)
ЛО	6,25% (n=2)	3,125% (n=1)
ИО	34,375% (n=11)	31,25% (n=10)
Точность положительного предсказания	84,2%	80,95%
Точность отрицательного предсказания	84,62%	90,91%
Чувствительность	88,89%	94,44%
Специфичность	78,57%	71,84%
Диагностическая ценность метода	84,38%	84,38%

Примечание: ИП – истинно-положительные результаты, ЛП – ложноположительные результаты, ЛО – ложноотрицательные результаты, ИО – истинно-отрицательные результаты.

При сравнении данных бпМРТ и мпМРТ рассчитанные диагностические параметры оказались аналогичными, далее был проведен статистически анализ полученных данных (Таблица 2).

Таблица 2.

Статистические данные

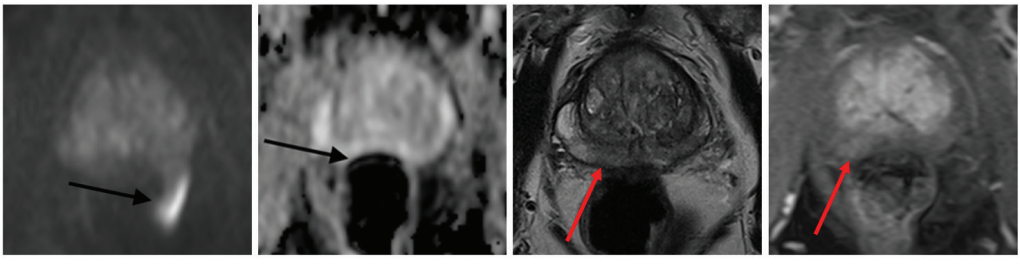
Параметр	**Статистический тест/ критерий**	**Полученное значение**	**Статистическая значимость**
Диагностические точности бпМРТ и мпМРТ	Тест Мак-Немара	p =1,000	Различия не значимы
	Биномиальный тест	p =1,000	Различия не значимы
	Корреляционный тест Спирмена, f=30	r = 0,871 p < 0,001	Зависимость значима
Анализ связи возраста пациентов с наличием РПЖ по биопсии	Корреляционный тест Спирмена, f=30	r=0,320 p > 0,05	Зависимость не значима

В результате, для данной выборки статистически значимых различий между двумя методиками МРТ в диагностике РПЖ не выявлено.

После получения всех данных был проведен анализ расхождения данных МРТ и биопсии.

На неверную интерпретацию МР-исследований могут влиять качество изображений, малый размер опухоли, соблюдение подготовки перед исследованием, наличие артефактов от газа в прямой кишке или артефактов от металла (при состоянии после эндопротезирования тазобедренных суставов).

Ниже приведен пример, где совокупность факторов (мелкий патологический очаг, наличие артефактов от газа в кишке) привела к выставлению категории PI-RADS 3, а по данным биопсии выявлены клетки аденокарциномы в 1 столбце из 16 (Рисунок 1).



а б в г

Рис.1.
На а) и б) на аксиальных срезах в режиме ДВИ и на карте ИКД черной стрелкой показаны артефакты от газа в кишке, которые снижают информативность изображений. На в) в средних задних отделах периферической зоны красной стрелкой указана зона пониженной интенсивности сигнала на Т2-ВИ, с умеренным контрастированием в правых отделах на 7-8 часах на г)

Также не исключается ошибочная интерпретация данных МРТ врачом ультразвуковой диагностики при выборе таргетного очага во время фьюжн-биопсии. В таком случае рекомендуется коллегиальный пересмотр МР-исследований для уточнения локализации подозрительных изменений. Часто это случается с пролабирующими узлами гиперплазии из переходной зоны в периферическую, который, в свою очередь, мимикрирует под гипоинтенсивный на Т2-ВИ очаг, часто с признаками рестрикции диффузии и активно накапливающий контрастный препарат.

Субъективная оценка и небольшой опыт работы врача-рентгенолога также могут приводить к завышению категории PI-RADS. Например, в случае наличия у пациента острого простатита и соответствующей клиники. При остром простатите также имеет место быть повышенный ПСА, и зона, вовлеченная в воспалительный процесс, имеет гипоинтенсивный сигнал, может активно накапливать контрастный препарат и иметь признаки рестрикции диффузии – все формальные критерии PI-RADS 5. В нашем исследовании был выявлен один пациент с ЛП результатом, которому была выставлена категория PI-RADS 5 по формальным критериям, а по данным биопсии у него были выявлены маркеры воспаления и гиперпластический процесс.

По итогам сравнения диагностических параметров бпМРТ и мпМРТ количество расхождений диагнозов обоих методик было одинаковым и составило 15,6% от общего количества. 60% этих расхождений были выявлены у одних и тех же пациентов с гиперплазией простаты, которым была выставлена категория PI-RADS 4. При этом, процент ИО и ЛО результатов оказался выше у бпМРТ, а у мпМРТ был выше процент ИП и ЛП результатов. Чувствительность мпМРТ оказалась несколько выше, чем у бпМРТ – соответственно 94% и 89%, однако специфичность была выше у бпМРТ – 79% против 72%. Диагностическая точность методик МРТ не различалась.

Таким образом, данные настоящей работы подтверждают литературные данные о том, что диагностические критерии бпМРТ являются схожими с мпМРТ. Это позволяет сделать вывод, что внутривенное контрастирование не имеет решающего значения для постановки диагноза РПЖ, и данный подход может быть пересмотрен в будущем.

Выводы. Проведен сравнительный анализ результатов мульти- и бипараметрической МРТ простаты и данных фьюжн биопсии в группе пациентов, состоящей из 32 человек, рассчитаны диагностические параметры методик в диагностике рака предстательной железы, проведен статистический анализ полученных данных, а также выявлены причины несоответствия диагнозов. По результатам работы сделан вывод, что при подозрении на РПЖ МРТ органов малого таза допустимо выполнять без внутривенного контрастирования, так как значимых различий между контрастной и бесконтрастной МРТ не было выявлено. В дальнейшем планируется расширить группу пациентов для более корректных статистических данных и оценки необходимости контрастирования.

Список литературы:

1. *Schafer E. J., Laversanne M., Sung H., et al. Recent patterns and trends in global prostate cancer incidence and mortality: an update // European Urology. — 2025. — T. 87, № 3. — C. 302–313. — DOI: 10.1016/j.eururo.2024.11.013.*
2. *Cornford P., Van Den Bergh R. C. N., Briers E., et al. EAU-EANM-ESTRO-ESUR-ISUP-SIOG guidelines on prostate cancer—2024 update. Part I: screening, diagnosis, and local treatment with curative intent // European Urology. — 2024. — T. 86, № 2. — C. 148–163. — DOI: 10.1016/j.eururo.2024.03.027.*
3. *Hagens M. J., Fernandez Salamanca M., Padhani A. R., et al. Diagnostic performance of a magnetic resonance imaging-directed targeted plus regional biopsy approach in prostate cancer diagnosis: a systematic review and meta-analysis // European Urology Open Science. — 2022. — T. 40. — C. 95–103. — DOI: 10.1016/j.euros.2022.04.001.*
4. *Pickersgill N. A., Shiang A. L., Vetter J. M., et al. Diagnostic accuracy of biparametric vs. multiparametric MRI for clinically significant prostate cancer. World J Urol. 2025;43(1):577. doi:10.1007/s00345-025-05951-4*
5. *Alexander B. C. D. Ng., Asif A, Agarwal R, et al. Biparametric vs Multiparametric MRI for Prostate Cancer Diagnosis: The PRIME Diagnostic Clinical Trial. JAMA. 2025;334(13):1170-1179. doi:10.1001/jama.2025.13722*

* * *

ПРЕИМУЩЕСТВА 3D-МОДЕЛИРОВАНИЯ ПОЛОСТЕЙ СЕРДЦА ПО ДАННЫМ КТА У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА НА ПРИМЕРЕ АТРЕЗИИ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ

Кобелев Е.

Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е. Н. Мешалкина, Новосибирск

Предпосылки к проведению исследования. Выявление и постановка диагноза атрезии клапана легочной артерии с интактной межжелудочковой перегородкой (АЛА ИМЖП) в основном осуществляется с помощью эхокардиографии (ЭхоКГ), причем примерно в 86% случаев уже пренатально. Этот метод лучевой диагностики позволяет оценивать межпредсердную перегородку, трикуспидальный клапан, правый желудочек и ветви лёгочных артерий. Однако ЭхоКГ имеет ряд ограничений при оценке объема и фракции выброса правого желудочка. Компьютерно-томографическая ангиография (КТА) позволяет проводить комплексную оценку анатомии сердца и магистральных сосудов, в частности визуализация формы и размеров открытого артериального протока является одним из наиболее прогностически важных критериев в тактике ведения таких пациентов. Внедрение в практическую деятельность методик измерения объемов (волюмометрии) камер сердца на основе данных КТА в разные фазы сердечного цикла, позволяет получать более точные значения конечно-диастолического объема (КДО) и конечно-систолического объема (КСО) правого и левого желудочков сердца, проводить более точный расчет фракции выброса (ФВ).

Цель. Изучить возможности трехмерного динамического представления анатомической формы и сократимости у пациентов с АЛА ИМЖП на основе сравнения показателей КДО правого желудочка и его ФВ, измеряемые методами ЭхоКГ и КТА с применением 3D-моделирования камер сердца.

Материалы и методы. *Проведен ретроспективных анализ данных КТА* и ЭхоКГ у 12 пациентов с диагнозом АЛА ИМЖП проходивших лечение с января 2019г. по март 2025г. В анализ были включены данные всех исследований, проводимых на разных этапах коррекции врожденного порока сердца.

Результаты и обсуждение. КДО правого желудочка по результатам 3D-моделирования на основе данных КТА у всех пациентов в среднем составил 9,9 [2,7;12,9 мл], конечно-систолический объем (КСО) – 4,7 [1,7;6,6 мл], фракция выброса – 42 [18;70%]. При сопоставлении данных 3D-моделирования и ЭхоКГ результаты объемных измерений и функционального анализа значительно отличались. При сравнении КДО правого желудочка по данным КТА и его линейных измерений по данным ЭхоКГ была установлена сильная корреляционная связь, где r=0,86 у конечно-диастолического размера (КДР) в базальном отделе, r=0,84 у КДР в среднем отделе, r=0,80 у КДР по длинной оси. При этом необходимо отметить, что при сравнении ФВ рассчитанной по данным КТА и фракции изменении площади правого желудочка была установлена умеренная положительная корреляционная связь, где r=0,31.

Заключение. Применение 3D-моделирования и 3D-печати у детей с АЛА ИМЖП дает возможность персонифицировано планировать хирургические вмешательства на сердце у конкретного пациента, позволяя анализировать анатомические особенности порока, более точно оценивать КДО и ФВ желудочков сердца в течение периода наблюдения за пациентом.

Предпосылки к проведению исследования. Выявление и постановка диагноза атрезии клапана легочной артерии с интактной межжелудочковой перегородкой (АЛА ИМЖП) в основном осуществляется с помощью эхокардиографии (ЭхоКГ), причем примерно в 86% случаев уже пренатально. Этот метод лучевой диагностики позволяет оценивать межпредсердную перегородку, трикуспидальный клапан, правый желудочек и ветви лёгочных артерий. Однако ЭхоКГ имеет ряд ограничений при оценке объема и фракции выброса правого желудочка. Компьютерно-томографическая ангиография (КТА) позволяет проводить комплексную оценку анатомии сердца и магистральных сосудов, в частности визуализация формы и размеров открытого артериального протока является одним из наиболее прогностически важных критериев в тактике ведения таких пациентов. Внедрение в практическую деятельность методик измерения объемов (волюмометрии) камер сердца на основе данных КТА в разные фазы сердечного цикла, позволяет получать более точные значения конечно-диастолического объема (КДО) и конечно-систолического объема (КСО) правого и левого желудочков сердца, проводить более точный расчет фракции выброса (ФВ).

Цель. Изучить возможности трехмерного компьютерного представления и анализа анатомических и функциональных показателей у пациентов с атрезией легочной артерии путем сравнения величин измерения размеров правого желудочка и его ФВ, измеряемые методами ЭхоКГ и КТА с применением 3D-моделирования камер сердца.

Материалы и методы. С января 2019г по март 2025г, 12 пациентов в ФГБУ «НМИЦ им.ак. Е.Н. Мешалкина» проходили обследование и лечение с диагнозом АЛА ИМЖП, так что данное исследование является целиком ретроспективным. Все данные вводились и анализировались ретроспективно из базы данных клиники. У 7 пациентов перед радикальной коррекцией врожденного порока осуществлялся динамический контроль по данным КТА и ЭхоКГ. Летальный исход заболевания в послеоперационном периоде во время госпитализации был только у 1 пациента.

КТА выполняли на аппаратах Aquilion 64 и Aquilion One 320 (Toshiba, Japan) с толщиной реконструируемого слоя не более 1 мм, с реконструкцией в диастолическую и систолическую фазы сердечного цикла. 3D-моделирование и анализ объемных структур осуществлялись в программном обеспечении Materialise Medical (Materialise HQ, Belgium).

Трансторакальную 3D-ЭхоКГ проводили на аппарате Vivid E95 (GE Healthcare, Франция) с обязательной ЭКГ-синхронизацией в положении пациента на левом боку.

Статистический анализ был выполнен с использованием программного пакета Microsoft Excel. Непрерывные данные отличались от нормального распределения и представлены как медиана [25-й и 75-й процентиль]. Качественные данные представлены как частоты и соответствующие им проценты представленности в группах. Коэффициент корреляции Пирсона (r) применяли для оценки силы связи между сравниваемыми показателями.

Результаты и обсуждение. Средний возраст пациентов на момент первичного обследования составил 99 [3; 126 дней]. Во всех случаях были выявлены признаки открытого овального окна или вторичного дефекта межпредсердной перегородки, открытого

артериального протока. У 6 пациентов имелась гипоплазия правого желудочка тип В по Bull [50%], и только у 5 были выявлены признаки недостаточности трикуспидального клапана. У 2 пациентов порок сочетался с гипоплазией центрального легочного русла. КДО правого желудочка по результатам 3D-моделирования на основе данных КТА у всех пациентов в среднем составил 9,9 [2,7;12,9 мл], КДС – 4,7 [1,7;6,6 мл], фракция выброса – 42 [18;70%]. При сопоставлении данных 3D-моделирования и ЭхоКГ результаты объемных измерений и функционального анализа не имели совпадений. При сравнении КДО правого желудочка по данным КТА и его линейных измерений по данным ЭхоКГ была установлена сильная корреляционная связь, где r=0,86 у КДР в базальном отделе, r=0,84 у КДР в среднем отделе, r=0,80 у КДР по длинной оси. При этом стоить отметить, что при сравнении фракции выброса (ФВ) рассчитанной по данным КТА и фракция изменения площади ПЖ (RVFAC) была установлена умеренная положительная корреляционная связь, где r=0,31 (рис.1).

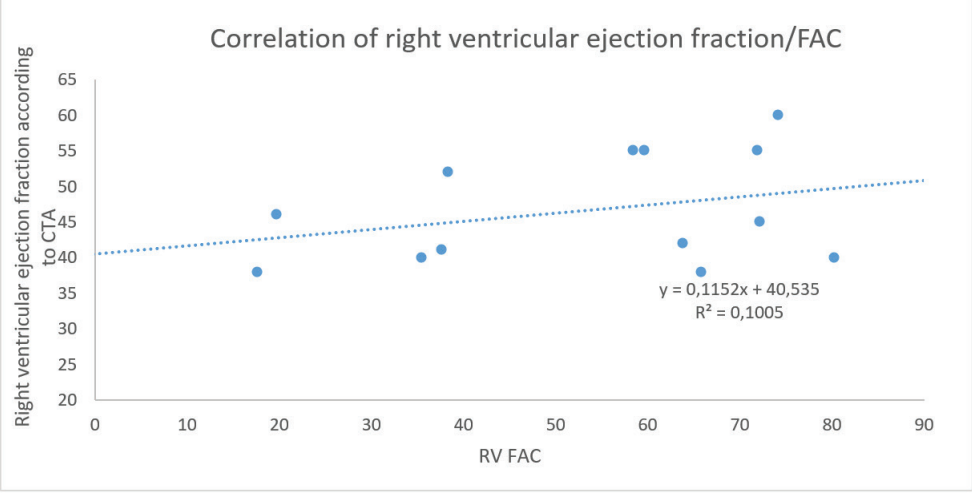


Рис.1.
Диаграмма корреляции фракции выброса правого желудочка, рассчитанной по данным КТА, и RVFAC, рассчитанной по данным эхокардиографии

Обсуждение. Эхокардиографическая оценка функции и размеров правого желудочка при заболеваниях сердца у детей представляет собой сложную задачу из-за большой вариабельности как морфологии, так и его физиологии [5].

Считается, что измерение площади ПЖ хорошо отражает его объём, а ее изменение от конечной диастолы до конечной систолы можно использовать в качестве замены объёмной фракции выброса. RVFAC, определяемая по апикальным 4-камерным плоскостям, должна хорошо коррелировать с фракцией выброса ПЖ. К сожалению, в случаях гипоплазии ПЖ у детей с врожденными пороками сердца оценка данного параметра затруднена из-за измененной формы, в частности при выраженной гипертрофии миокарда.

Современные программные обеспечения, работающие с форматами DICOM (Digital Imaging and Communications in Medicine), позволяют в процессе формирования 3D-моделей полостей сердца и магистральных сосудов проводит сегментацию на основе разности плотности контрастированной крови, миокарда и окружающей клетчатки.

Получаемые значения объемов правого желудочка в конечно-диастолическую и конечно-систолическую фазы, позволяют рассчитывать значения фракции выброса вне зависимости от сложности анатомической структуры желудочка. Стоить отметить, расчеты КДО и ФВ по магнитно-резонансной томографии также будут уступать предлагаемой методике, поскольку имеет ряд ограничений, связанных с толщиной среза получаемых изображений, деформации полости желудочка относительно межжелудочковой перегородки и плоскости фиброзного кольца атриовентрикулярного клапана. Помимо этого, воспроизводилось данного метода, позволяет сравнивать размеры полостей сердца в динамике, как с использованием программного обеспечения для просмотра 3D-моделей, поскольку сохраняются их пространственные значения, так и после 3D-печати, что может быть полезным при планировании радикальных вмешательств для коррекции врожденного порока сердца.

Выводы. Применение 3D-моделирования и его вывод на материальный носитель в виде 3D-печати у детей с атрезией легочной артерии с интактной межжелудочковой перегородкой дает возможность персонифицировано планировать хирургические вмешательства на сердце у конкретного пациента, позволяя сердечно-сосудистому хирургу анализировать анатомические особенности порока еще на дооперационном этапе, получать точные данные об объемах полостей, тем самым оценивать КДО и ФВ желудочков сердца в течение периода наблюдения за пациентом. Такой подход может иметь значение как инструмент прогноза для принятия решения о необходимости и сроках коррекции порока, а также объемах хирургического вмешательства в период наблюдения за такими пациентами с атрезией легочной артерии, неизбежно требующей ранней хирургической коррекции.

Список литературы:

1. *Котов С.А., Соболев А.В., Чвамания А.А., Бутрим Ю.В. Трансвентрикулярная баллонная вальвулопластика клапанного стеноза легочной артерии у новорожденного ребенка с атрезией легочной артерии I типа с интактной межжелудочковой перегородкой. Детские болезни сердца и сосудов. 2019; 16 (4): 282-286.*
Kotov S.A., Sobolev A.V., Chvamania A.A., Butrim Yu.V. Transventricular balloon valvular pulmonary artery stenosis in a newborn child with type I pulmonary artery atresia with intact interventricular septum. Childhood diseases of the heart and blood vessels. 2019; 16 (4): 282-286. (In Russian)
https://doi.org/10.24022/1810-0686-2019-16-4-282-286
2. *Gorla SR, Thomas A, Singh AP. Pulmonary Atresia With Intact Ventricular Septum. [Updated 2025 May 5]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK546666/*

3. *Пичкуре Ж., Калинин А., Лейниекс А., Алехин М.Н. Современные методы эхокардиографии в оценке функции правого желудочка. Кардиология. 2017;57(9):54–64. Pickure Z., Kalinin A., Lejnieks A., Alekhin M.N. Current Echocardiographic Techniques for Evaluation of the Right Ventricle. Kardiologiia. 2017;57(9):54–64. (In Russian) https://doi.org/10.18087/cardio.2017.9.10019*
4. *Ярощук Н.А., Кочмашева В.В., Дитятев В.П. Сравнительный анализ значений объемов левого желудочка у пациентов с инфарктом миокарда в зависимости от метода визуализации. Российский кардиологический журнал. 2012;(5):30-33. Yaroshchuk N.A., Kochmasheva V.V., Dityatev V.P. Comparative analysis of left ventricular volume parameters by visualisation method in patients with myocardial infarction. Russian Journal of Cardiology. 2012; (5):30-33. (In Russian)*
5. *Mah K, Mertens L. Echocardiographic Assessment of Right Ventricular Function in Paediatric Heart Disease: A Practical Clinical Approach. CJC Pediatr Congenit Heart Dis. 2022 May 13;1(3):136-157. https://doi.org/10.1016/j.cjcpc.2022.05.002*

✶ ✶ ✶

ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТЕЙ 3D SLICER ПРИ ПРЕДОПЕРАЦИОННОЙ РАЗМЕТКЕ

Лобанов И.С.
Самарский государственный медицинский университет, Самара

Предпосылки к проведению исследования. Менингиомы являются преимущественно доброкачественными новообразованиями, составляющими примерно 20% всех первичных опухолей головного мозга у мужчин и до 38% у женщин. Стереотаксическая радиохирургия (СРХ) на установке «Гамма-нож» является эффективным методом лечения менингиом, однако планирование лечения требует ручного оконтуривания опухоли, занимающего значительное время и зависящего от опыта оператора. В связи с этим представляет интерес использование 3D Slicer для полуавтоматической сегментации менингиом.

Цель. Сравнить возможности Leksell GammaPlan и 3D Slicer при сегментации менингиом для планирования стереотаксической радиохирургии.

Материалы и методы. Проведено ретроспективное исследование 50 пациентов с менингиомами головного мозга, которым выполнена СРХ на установке Leksell Gamma Knife Icon (Elekta Instrument AB, Швеция). МРТ головного мозга с толщиной среза 1 мм импортировали в 3D Slicer, где выполняли полуавтоматическую сегментацию с использованием инструмента Grow from Seeds. Полученные контуры сравнивали с ранее выполненными вручную контурами в Leksell GammaPlan. Оценивали объем опухоли, абсолютную и относительную ошибки, различия между методами и корреляцию результатов. Для статистического сравнения использовали данные 45 пациентов, у которых имелись полностью сопоставимые данные ручной и полуавтоматической сегментации.

Результаты и обсуждение. Средний объем опухоли при ручной сегментации составил 3,944 см³, при полуавтоматической - 4,007 см³. Средняя абсолютная ошибка составила 0,192 см³, относительная ошибка - 4,81%. Статистически значимых различий между методами не выявлено ($t=1,13$; $p=0,263$). Коэффициент корреляции Пирсона составил $r=0,998$. Использование 3D Slicer позволило сократить время построения контуров примерно в 3 раза по сравнению с ручной сегментацией в Leksell GammaPlan. Полученные контуры могли требовать последующей коррекции специалистом.

Выводы. Полуавтоматический метод 3D Slicer уступает в точности ручному контурированию в Leksell GammaPlan. Однако комбинирование подходов позволяет существенно сократить время разметки при сохранении высокой сопоставимости результатов.

Предпосылки к проведению исследования. Менингиомы - преимущественно доброкачественные новообразования, составляющие примерно 20% всех первичных опухолей головного мозга у мужчин и до 38% у женщин. Пик заболеваемости наблюдается в возрасте 55–64 лет [1]. Особенностью менингиом является отсутствие специфической неврологической симптоматики и разнообразие их локализации. Зачастую заболевание может протекать бессимптомно годами, а первым его проявлением в большинстве случаев становится головная боль. В зависимости от локализации менингиомы могут приводить к ухудшению зрения и слуха, нарушению двигательных функций и координации

движений, а также вызывать синдром внутричерепной гипертензии и эпилептический синдром. Поэтому, несмотря на доброкачественный характер опухоли, менингиомы требуют своевременного лечения. Стереотаксическая радиохирургия (СРХ) является эффективным методом лечения менингиом, в том числе расположенных в хирургически труднодоступных областях. Для планирования СРХ на установке «Гамма-нож» используется система Leksell GammaPlan (LGP), позволяющая выполнять контурирование опухолей и критических структур, измерять их объемы и определять дозовые нагрузки. При этом на LGP посрезовая разметка выполняется вручную, поэтому результат контурирования зависит от опыта оператора и требует значительных временных затрат, особенно при сложной анатомии [1]. В связи с развитием методов анализа медицинских изображений возрастает интерес к программным инструментам, позволяющим выполнять полуавтоматическую обработку МРТ-данных [3].

Одним из таких инструментов является 3D Slicer - открытое программное обеспечение для визуализации и анализа медицинских изображений. Программа поддерживает ручные и полуавтоматические методы сегментации, в том числе инструмент Grow from Seeds, позволяющий выделять патологические образования с последующим измерением их объема. Возможность работы с медицинскими изображениями в трех взаимно перпендикулярных плоскостях и построения трехмерных моделей может быть использована для предоперационного планирования и оценки объемов опухолей [2].

Цель. Сравнить возможности программных комплексов Leksell GammaPlan и 3D Slicer при сегментации менингиом для предпланирования стереотаксической радиохирургии на установке «Гамма-нож».

Материал и методы. На базе СОБК им. В.Д. Середавина в ООО «Центр перспективной медицины» (г. Самара) проведено ретроспективное исследование 50 пациентов с менингиомами головного мозга. Но для статистического анализа использовали данные 45 пациентов, которые имели сопоставимые результаты ручной и полуавтоматической сегментации. Всем пациентам была проведена стереотаксическая радиохирургия с использованием установки Leksell Gamma Knife Icon (Elekta Instrument AB, Швеция); для планирования лечения использовалось программное обеспечение Leksell GammaPlan (Elekta). МРТ головного мозга выполняли с толщиной среза 1 мм. Полученные изображения импортировали в программное обеспечение 3D Slicer, где выполняли полуавтоматическую сегментацию менингиом с использованием инструмента Grow from Seeds. Полученные контуры сравнивали с ранее выполненными вручную контурами в Leksell GammaPlan. Оценивали объемы менингиом, абсолютную и относительную погрешность, различия между методами и корреляцию полученных результатов. Для статистического анализа использовали парный t-критерий Стьюдента и коэффициент корреляции Пирсона.

Результаты и обсуждение. Было обследовано 50 пациентов с менингиомами, среди которых было 41 женщина и 9 мужчин; средний возраст составил 57,5 лет (диапазон 28-77 лет). Для статистического сравнения использовали данные 45 пациентов, у которых имелись полностью сопоставимые данные ручной и полуавтоматической сегментации. Основными жалобами пациентов являлись периодическая головная боль, головокружение и нарушение зрения. До проведения СРХ объем менингиом, определенный при ручной сегментации в программе Leksell GammaPlan, варьировал от 0,154 до 21,153 см^3 и в среднем составил 4,64 см^3. Для сравнения методов использовали ранее выполненные вручную контуры менингиом в программе Leksell GammaPlan. На тех же МР-томограммах выполняли полуавтоматическую сегментацию в 3D Slicer с использо-

ванием инструмента Grow from Seeds. Полученные контуры и объемы опухолей сравнивали с результатами ручной сегментации в Leksell GammaPlan (рисунок 1).

Снимки сравнивались с разметками, которые были созданы в программе 3D Slicer полуавтоматически методом: “Grow from seeds” (рисунок 2).

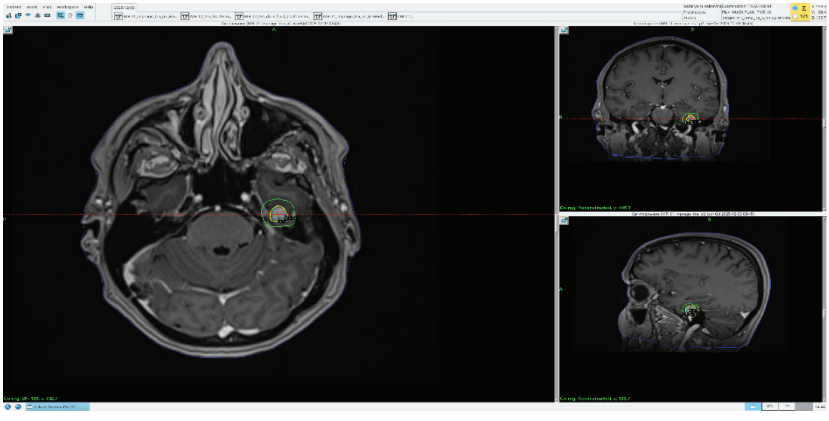
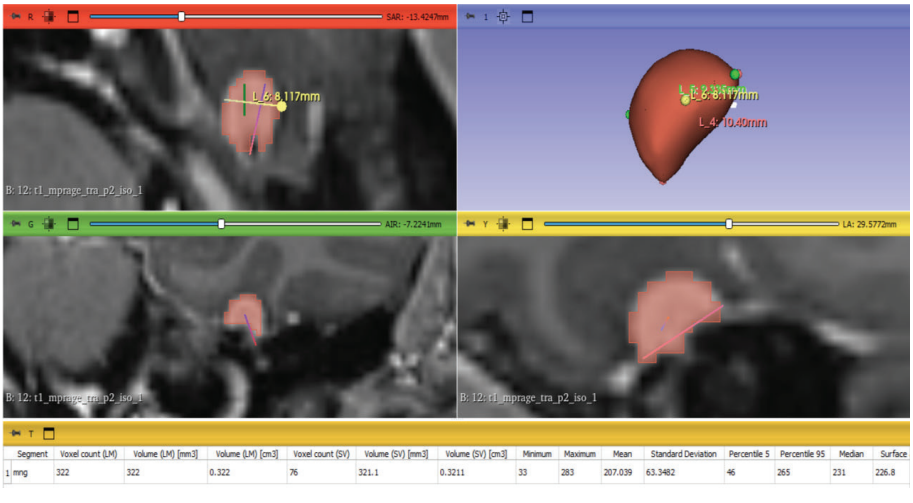


Рис.1.
МРТ головного мозга пациентки П., 49 лет от 03.12.2025 г.: Т1-ВИ в аксиальной, корональной и сагитальной проекциях после внутривенного контрастирования, обработанные с помощью программного обеспечения GammaPlan



Segment	Voxel count (LM)	Volume (LM) [mm3]	Volume (LM) [cm3]	Voxel count (SV)	Volume (SV) [mm3]	Volume (SV) [cm3]	Minimum	Maximum	Mean	Standard Deviation	Percentile 5	Percentile 95	Median	Surface
1 mng	322	322	0.322	76	321.1	0.3211	33	283	207.039	63.3482	46	265	231	226.8

Рис.2.
Трехмерная реконструкция менингиомы пациентки П., 49 лет по данным МРТ головного мозга (Т1-ВИ после внутривенного контрастирования от 03.12.2025 г.), выполненная с помощью программного обеспечения 3D Slicer

Метод был протестирован на реальных клинических данных и сравнен с эталонными контурами, созданными вручную. Средний объем опухоли при ручной сегментации составил 3,944 см³, при полуавтоматической сегментации - 4,007 см³. Средняя абсолютная ошибка при сравнении объемов составила 0,192 см³, а относительная ошибка - 4,81%. Статистически значимых различий между объемами, полученными двумя методами, не выявлено (t=1,13; p=0,263). Коэффициент корреляции Пирсона составил r=0,998, что свидетельствует о высокой согласованности результатов сегментации. Использование полуавтоматической сегментации в 3D Slicer позволило сократить время построения контуров примерно в 3 раза по сравнению с ручной сегментацией в Leksell GammaPlan. При этом полученные контуры могли потребовать последующей коррекции специалистом с учетом клинических требований. Таким образом, применение 3D Slicer позволяет ускорить

Результаты нашего исследования соотносятся с данными из литературы о том, что разметка 3D Slicer является эффективным способом предоперационного планирования. В исследовании Li S. и соавторов [4] использование данного программного обеспечения способствовало улучшению точности размеров гематом и скорости выполнения лечения. Ключевым отличием нашего исследования является попытка внедрения 3D Slicer в этап предоперационного планирования для стереотаксической хирургии на аппарате “Гамма-нож”.

Вывод. Программа 3D Slicer обладает обширным набором инструментов для визуализации и анализа разметки опухолей, таких как менингиомы. Одним из ее главных преимуществ является высокая скорость создания разметок. Ее портативность, удобный интерфейс, низкие системные требования и возможность работы на стандартных персональных компьютерах указывают на высокую практическую ценность, особенно в условиях ограниченных ресурсов. В то же время, полуавтоматический метод уступает в точности более трудоемкому ручному контурированию, выполняемому опытными специалистами в Leksell GammaPlan. Однако комбинирование подходов позволяет существенно сократить время разметки, не теряя при этом в точности.

Список литературы:

1. *Голанов А.В., Костюченко В.В. Нейрорадиохирургия на гамма-ноже. Москва. 2018.*
2. *Zhou L., Wang W., Wei H., et al. Clinical application of 3D Slicer combined with Sina/MosoCam multimodal system in preoperative planning of brain lesions surgery. Sci Rep. 2022;12(1):19258. doi: 10.1038/s41598-022-22549-7.*
3. *Ugga L., Perillo T., Cuocolo R., et al. Meningioma MRI radiomics and machine learning: systematic review, quality score assessment, and meta-analysis. Neuroradiology. 2021;63(8):1293-1304. doi: 10.1007/s00234-021-02668-0.*
4. *Li S., Wang L. 3D Slicer-Assisted Preoperative Planning Enhances Hematoma Evacuation in Stereotactic Aspiration for Intracerebral Hemorrhage. World Neurosurg. 2025;195:123684. doi: 10.1016/j.wneu.2025.123684*

✶ ✶ ✶

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА ТИПОВ ГЕПАТОПУЛЬМОНАЛЬНОГО СИНДРОМА ПО ДАННЫМ ПРОТОННОЙ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ КОМПЛЕКСА «СЕЛЕЗЕНКА–ПОЧКИ»

Ореховская А.Г.
Смоленский государственный медицинский университет, Смоленск

Предпосылки к проведению исследования. Гепатопульмональный синдром (ГПС) при циррозе печени подразделяется на два морфофункциональных типа, требующих принципиально разной лечебной тактики. Существующие диагностические методы (ЭхоКГ с контрастом, DLCO, газы крови) фиксируют уже развившиеся изменения, но не позволяют неинвазивно дифференцировать типы ГПС и неприменимы у тяжёлых пациентов. Патогенетическая связь ГПС с метаболическими нарушениями в селезёнке и почках делает протонную МРспектроскопию (^{1}HMPC) перспективным инструментом для количественной оценки этих сдвигов. Необходимость создания объективного, безопасного и доступного метода типирования ГПС для выбора терапии и мониторинга послужила основой для данного исследования.

Цель. Оценить возможности протонной магнитно-резонансной спектроскопии комплекса «селезенка-почки» в дифференциальной диагностике типов гепатопульмонального синдрома.

Материал и методы. Проведено наблюдательное диагностическое исследование с включением пациентов с верифицированным циррозом печени и ГПС (основная группа) и 18 практически здоровых добровольцев (контроль). Всем выполняли ^{1}H-МРС селезёнки и почек на томографе 1,5 Тл с импульсной последовательностью PRESS (TE=136 мс, TR=1500 мс), определяя относительные концентрации холина (3,24 ppm) и липидного комплекса (1,3 ppm). Рассчитывали индекс селезёнки (IsS = Chol/Lip), индекс почки (IsK = Chol/Lip) и полный спектроскопический индекс (FIs = IsS/IsK). Референтными методами служили анализ газов артериальной крови, исследование функции внешнего дыхания, рентгенография органов грудной клетки и морфологическое исследование лёгочных биоптатов.

Результаты и обсуждение. У здоровых лиц FIs составил 0,13 [0,08; 0,19]. У пациентов с ГПС I типа (n=26) медиана FIs равнялась 0,5 [0,2; 0,7], при ГПС II типа (n=12) – 2,9 [1,9; 5,5] ($p<0,001$). Наблюдалось минимальное перекрытие значений вблизи порогового уровня. ROC-анализ продемонстрировал высокую диагностическую точность: AUC=0,97 (95% ДИ 0,93–1,00), чувствительность 96,2%, специфичность 100%.

Выводы. 1) Полный спектроскопический индекс FIs (^{1}H-МРС селезёнки и почек) обладает высокой диагностической точностью в разделении I и II типов ГПС: AUC=0,97, чувствительность 96,2%, специфичность 100%; порог FIs ≤0,9 – I тип, ≥1,0 – II тип. 2) Значение FIs определяет лечебную тактику: при FIs ≤0,9 – базисная терапия с контролем через 7 суток, при FIs ≥1,0 – интенсивный режим с контролем через 3 суток.

Предпосылки к проведению исследования. Гепатопульмональный синдром (ГПС) – частое осложнение цирроза печени (4–19%, до 20% среди кандидатов на трансплантацию), обусловленное внутрилёгочной сосудистой дилатацией. Выделяют два типа: I (диффузная эктазия, гипоксемия корригируется кислородом) и II (артериовенозные шунты, рефрактерная гипоксемия), требующие принципиально разной терапии – от базисной до интенсивной с вазодилататорами. Существующие методы (контрастная ЭхоКГ, DLCO, сцинтиграфия, газы крови) инвазивны, малочувствительны, не позволяют неинвазивно типировать ГПС и неприменимы у тяжёлых пациентов. Патогенетическая связь ГПС с метаболическими сдвигами в селезёнке (застой, выброс медиаторов) и почках (активация РААС, гиперволемия) делает ^{1}H-МРС, оценивающую соотношение холина (маркёр воспаления) и липидов, перспективным безопасным инструментом для количественного типирования без контраста и ионизирующего излучения.

Цель. Оценить возможности протонной магнитно-резонансной спектроскопии комплекса «селезенка-почки» в дифференциальной диагностике типов гепатопульмонального синдрома.

Материалы и методы. Проведено наблюдательное диагностическое исследование, включившее 38 пациентов с верифицированным циррозом печени и гепатопульмональным синдромом (основная группа) и 18 здоровых добровольцев, сопоставимых по полу и возрасту. Критерии включения: подтверждённый цирроз, портальная гипертензия (УЗИ), дыхательная недостаточность. Исключали: противопоказания к МРТ, тяжёлую кардиореспираторную патологию, отказ. Референтные методы: функция внешнего дыхания (ЖЕЛ, ОФВ$_1$), рентгенография ОГК, газы артериальной крови (PaO_2), морфологическое исследование лёгочных биоптатов (у части пациентов) для верификации типов ГПС.

Всем выполняли ^{1}H-МРС селезёнки и почек на томографе 1,5 Тл с импульсной последовательностью PRESS (TE = 136 мс, TR = 1500 мс, размер воксела 17×17×17 мм, 32 повторения). Определяли относительные концентрации холина (3,24 ppm) и липидного комплекса (1,3 ppm). Рассчитывали индекс селезёнки (IsS = Chol/Lip), индекс почки (IsK = Chol/Lip) и полный спектроскопический индекс (FIs = IsS/IsK). Статистическая обработка: непараметрические критерии Манна–Уитни и Вилкоксона, данные представлены как медиана и межквартильный размах, различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. При анализе результатов референтных методов и сопоставлении с клинической картиной пациенты основной группы были разделены на две подгруппы: 1-я подгруппа - предварительный диагноз «ГПС I тип»; 2-я подгруппа - предварительный диагноз «ГПС II тип». Полученные данные представлены в табл.1.

Таблица 1.

Группировка больных в соответствии с результатами референтных методов и типа ГПС (n=38)

Показатель	ГПС I тип (n = 26)	ГПС II тип (n = 12)	P
Функция внешнего дыхания			
ЖЕЛ, % от должного	79,0 [72,0; 85,0]	63,5 [55,5; 72,0]	0,001
$ОФВ_1$, % от должного	76,0 [68,0; 82,0]	60,5 [52,0; 70,0]	0,002
Рентгенография ОГК			
Интерстициальные изменения, n (%)	21 (80,8)	12 (100)	0,04
Прикорневое сгущение лёгочного рисунка, n (%)	4 (15,4)	10 (83,3)	<0,001
Плевральный выпот, n (%)	2 (7,7)	6 (50,0)	<0,001
Газы артериальной крови			
PaO_2, мм рт. ст.	73,0 [67,0; 78,0]	54,5 [48,0; 62,0]	<0,001
Морфология пульмонобиоптатов			
Степень внутрилегочной сосудистой дилатации	n (%)	n (%)	0,002
– лёгкая	18 (69,2)	0 (0)	
– умеренная	6 (23,1)	4 (33,3)	
– выраженная	2 (7,7)	8 (66,7)	

Примечание. p — достигнутый уровень статистической значимости различий между группами пациентов.

Полученные данные по группам пациентов были сопоставлены с результатами ^{1}H-МРС (табл.2).

Таблица 2.

Сравнение МРС индексов селезенки, почки и полного спектроскопического индекса у пациентов с I и II типом ГПС

Показатель	ГПС I тип (n = 26)	ГПС II тип (n = 12)	p
IsS	0,9 [0,4; 1,6]	3,6 [2,4; 5,2]	<0,001
IsK	1,7 [1,2; 2,5]	1,2 [1,0; 1,4]	<0,001
FIs	0,5 [0,2; 0,7]	2,9 [1,9; 5,5]	<0,001

Примечание. p — достигнутый уровень статистической значимости различий между группами пациентов.

Таким образом, было установлено, что значения МРС индексов достоверно различаются между группами пациентов с ГПС I и II типов (p<0,001 по всем показателям), что подтверждает их диагностическую значимость. Особое внимание было уделено

полному спектроскопическому индексу (FIs), который обладает наибольшей чувствительностью и специфичностью (рис.1), и интегрально отражает метаболические изменения в селезенке и почках. Согласно разработанной нами методике, пороговые значения FIs могут позволить прогнозировать тип гепатопульмонального синдрома: при FIs ≤ 0,9 диагностируется ГПС I типа, при FIs ≥ 1,0 — ГПС II типа. Наблюдалось минимальное перекрытие значений вблизи порогового уровня.

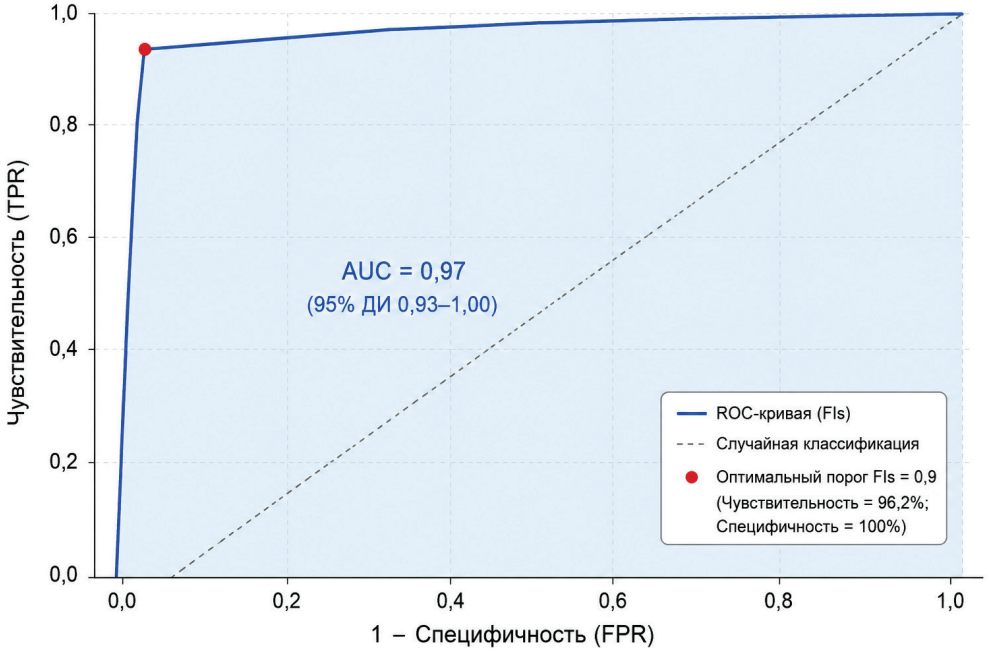


Рис.1.
ROC-кривая для дифференциации типов ГПС по индексу FIs

В зависимости от исходного типа ГПС пациенты получали дифференцированное лечение и проходили повторную МР-спектроскопию в разные сроки.

1-я группа (ГПС I, n=26) – базисная терапия, контроль МРС через 7 сут. У 88,5% (n=23) FIs остался в пределах I типа (медиана 0,4 [0,2; 0,6]) с клинико-рентгенологическим улучшением. У 11,5% (n=3) с исходным FIs 0,8–0,9 отмечен рост до 1,1 [1,0; 1,2], потребовавший интенсификации; у двух индекс вернулся <0,9 через 3 сут, у одного сохранялся на уровне 1,0 без ухудшения.

2-я группа (ГПС II, n=12) – интенсивная терапия (вазодилататоры, L-NAME, высокопоточный O_2), контроль через 3 сут. У 58,3% (n=7) – конверсия в I тип: FIs снизился до 0,6 [0,5; 0,7] ($p<0,001$) с улучшением газообмена и регрессом интерстициальных изменений. У 25% (n=3) FIs сохранялся на уровне II типа (2,1 [1,8; 2,4]) с рефрактерной

гипоксемией, потребовавшей перевода в ОРИТ. У 16,7% (n=2) с исходным FIs 4,8 и 5,6 – летальный исход в течение 48–72 ч.

Общая летальность во 2-й группе – 25% (3 из 12). Все погибшие имели исходный FIs ≥ 4,8, что определяет этот порог как прогностически неблагоприятный маркер, требующий агрессивной терапии. Изменения FIs до и после лечения у пациентов двух групп представлены на рис.2.

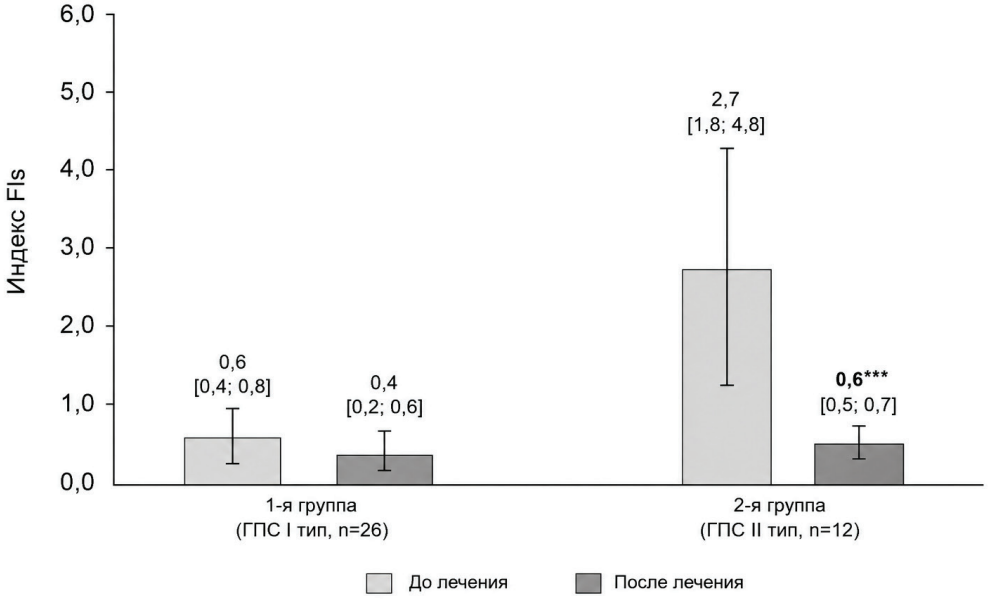


Рис.2.
Изменение FIs у пациентов исследуемых групп до и после лечения. Вертикальные отрезки обозначают 95% доверительные интервалы

Обсуждение. Перспективы применения ^{1}H-МРС на современной этапе развития медицины предоставляют принципиально новые возможности неинвазивной диагностики [1].

P.J. Bolan (2005), J.K.P. Begley, T.W. Redpath, P.J. Bolan, F.J. Gilbert (2012) считают, что появление клинического метода ^{1}H-МРС позволило неинвазивно оценивать метаболические процессы в тканях, повышать специфичность МР-диагностики при осложнениях ЦП, а также контролировать эффективность лечения [2].

Полученные в ходе нашего исследования результаты имеют ряд преимуществ перед существующими методами диагностики ГПС. Так, известна оценка риска развития гепатопульмонального синдрома [6], основанная на применении золотого стандарта диагностики – внутрилёгочной вазодилатации трансторакальной контрастной ЭХО-КГ

со вспененным физиологическим раствором. Однако данный метод не рекомендован для проведения у пациентов с циррозом печени из-за потенциального риска повреждения варикозно-расширенных вен пищевода с высоким риском кровотечения, о чем указывают сами авторы публикации. Помимо этого, авторы работы заявляют о возможном применении радиоизотопного сканирования с макроагрегированным альбумином. При этом, отмечается, что основным недостатком является низкая чувствительность, а также в работе не указано о возможностях дифференциации типов гепатопульмонального синдрома, что существенно влияет на тактику лечения, прогноз и мониторинг [2].

Наиболее клинически близким к предложенному нами методу является исследование функции легких у больных с ГПС по диффузионной способности монооксида углерода (DLCO), которая у пациентов с ГПС часто оказывается снижена [3]. Согласно мнению авторов, этот метод диагностики необходимо проводить в ≥ 2 измерениях, тогда как состояние пациентов с осложненными ЦП часто тяжелое, что не всегда позволяет выполнять исследование полно. При этом метод требует дорогостоящего оборудования, что также является дополнительным обременением.

Проанализировав отечественную и зарубежную литературу, нами был сделан вывод о практически полном отсутствии информации о методах типирования ГПС [1,2]. Последнее обстоятельство имеет ключевое клиническое значение, поскольку тактика ведения пациентов с ГПС I и II типами принципиально различается [3].

Таким образом, разработанная нами методика имеет ряд преимуществ: неинвазивен, не сопряжён с ионизирующим излучением, может выполняться на стандартном МР-томографе 1,5 Тл, а его экономическая эффективность сопоставима с рутинным МР-исследованием брюшной полости.

Выводы.

1. ^{1}H-МРС селезёнки и почек с вычислением индекса селезёнки (IsS), индекса почки (IsK) и полного спектроскопического индекса (FIs) достоверно ($p<0,001$) разграничивает I и II типы гепатопульмонального синдрома.

2. По данным ROC-анализа, полный спектроскопический индекс (FIs) продемонстрировал высокую диагностическую точность в дифференциальной диагностике I и II типов ГПС: площадь под ROC-кривой (AUC) составила 0,97 (95% ДИ 0,93–1,00), чувствительность — 96,2%, специфичность — 100%. Установлено пороговое значение FIs ≤ 0,9 для ГПС I типа и FIs ≥ 1,0 для ГПС II типа; наблюдалось минимальное перекрытие значений вблизи порогового уровня, что подтверждает высокую разделяющую способность индекса.

Список литературы:

1. *Fedosyina E.A., Bueverov A.O., Bogomolov P.O., Staroverova N.P. Some practical issues in the management of patients with decompensated liver cirrhosis. Therapeutic Archive. 2019;91(8):148–154. (In Russ). doi:10.26442/00403660.2019.08.000391*
2. *Avdeev S.N. Hepatopulmonary syndrome. Consilium Medicum. 2016;8(3):30–35. (in Russ.) doi: 10.26442/2075-1753_2016.3.30-35*
3. *Hepatopulmonary syndrome in liver cirrhosis: prevalence, clinical significance, diagnostic features, and treatment approaches. Archive of Internal Medicine. 2023;13(3):203–212. (in Russ). doi: 10.20514/2226-6704-2023-13-3-203-212.*

ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СЕТЕЙ В ОСТРЕЙШЕЙ ФАЗЕ ИНСУЛЬТА ПРИ ПОМОЩИ ФМРТ

Проняева К.А.[1,2], Станкевич Ю.А.[1,2], Петровский Е.Д.[1], Тулупов А.А.[1,2]

[1]Новосибирский государственный университет,
[2]Институт «Международный томографический центр» СО РАН,
Новосибирск

Предпосылки для проведения исследования. Понимание ранней реорганизации функциональных сетей мозга в острейшем периоде (первые 72 часа) может быть полезно для прогнозирования восстановления, однако данные о функциональной коннективности в этот период крайне ограничены.

Цель. Изучить особенности организации функциональных сетей мозга в острейшей фазе ишемического инсульта на основе данных фМРТ покоя.

Материал и методы. Было проведено МР-обследование контрольной группы условно здоровых добровольцев (n = 11, возраст 56-72 лет, 3Т) и пациентов в острейшей фазе ишемического инсульта (n = 14, возраст 54-84, 1,5Т) с оценкой неврологического дефицита по шкале NIHSS до 30 минут до начала сканирования. Обработка данных выполнена с использованием единого пайплайна, межгрупповое сравнение проведено с учетом пола, возраста, стороны поражения и различий оборудования. Рассчитаны показатель фракционной амплитуды низкочастотных колебаний (fALFF) и функциональная связность (FC) методом ROI-to-ROI для 14 областей сетей SMN, DAN и SN (91 связь). Статистический вывод проведён на уровне кластеров связей с поправкой на множественные сравнения (FDR).

Результаты и обсуждение. У пациентов выявлено значимое снижение FC в пяти кластерах (ведущий кластер $F(1,23) = 23,39$; p-FDR = 0,001), образующих два независимых компонента: 1) связи внутри салиентной сети (SN); 2) связи внутри сенсомоторной сети (SMN) и межсетевые связи SMN и сети дорсального внимания (DAN). Различий FC между подгруппами сверхострого (< 6 ч) и острейшего (6–72 ч) периодов не выявлено. Линейной зависимости FC от балла NIHSS в диапазоне лёгкой и среднетяжёлой неврологической симптоматики не обнаружено. При сравнении fALFF обнаружено снижение показателя у пациентов в четырёх кластерах (p-FDR < 0,05), локализованных преимущественно во фронтальных отделах. Возраст, пол и сторона поражения не вносили систематического вклада в наблюдаемые различия.

Выводы. Метод применим на томографе 1,5 Тл и допускает отсроченное выполнение. В острейшем периоде инсульта выявлено снижение функциональной связности внутри сетей SN, SMN и между SMN и DAN. Линейной связи с тяжестью неврологического дефицита не обнаружено.

Источник финансирования. Мы благодарим Министерство науки и высшего образования РФ за доступ к МРТ оборудованию.

Предпосылки к проведению исследования. Ишемический инсульт вызывает не только локальное повреждение, но и каскад функциональных изменений в дистантных, связанных с очагом областях - феномен диашиза. Современные работы смещают акцент

на коннекциональный диашиз - нарушение целостности связей между отдалёнными, но функционально объединёнными регионами, рассматриваемое как ключевой механизм системной сетевой дезорганизации при инсульте [1]. фМРТ покоя позволяет количественно оценивать эти изменения через показатели фракционной амплитуды низкочастотных колебаний (fALFF) и функциональной связности (FC). Мета-анализ 2025 года (24 исследования, 558 пациентов) подтвердил как внутрисетевую гипоконнективность в SMN, DAN и SN, так и межсетевые изменения [2]. Однако подавляющее большинство данных получено в острой и подострой фазах, тогда как острейший период остаётся наименее изученным [2, 3].

Цель. Изучить особенности реорганизации функциональных сетей головного мозга у пациентов в острейшем периоде ишемического инсульта (первые 72 часа от клинического дебюта) с использованием фМРТ покоя.

Материал и методы. Дизайн исследования - одномоментное наблюдательное исследование.

Участники. Исследование одобрено Локальным этическим комитетом МТЦ СО РАН (протокол № 2 от 29.04.2024). В исследование включено 14 пациентов (54–84 года) с ишемическим инсультом в острейшем периоде (давность менее 72 часов) и 11 условно здоровых добровольцев, сопоставимых по возрасту и полу. Критерии включения: первый подтверждённый ишемический инсульт с локализацией в большом полушарии, возраст от 18 лет, отсутствие противопоказаний к МРТ. Критерии исключения: геморрагический инсульт, иная выявленная патология головного мозга (объёмные образования, перенесённые ОНМК, демиелинизирующие заболевания, сосудистые мальформации, аневризмы), невозможность выполнения фМРТ. все участники дали письменное информированное согласие.

Клиническая оценка неврологического дефицита проводилась по шкале NIHSS за 15–30 мин до сканирования.

МР-протокол. Исследование проводилось на двух томографах в зависимости от группы, что обусловлено организационными особенностями проекта в условиях реальной клинической практики. Пациенты (n = 14) обследованы в региональном сосудистом центре на базе ГБУЗ НСО «Центральная клиническая больница» на клиническом томографе 1,5 Т (Philips, 16-канальная головная катушка), контрольная группа (n = 11) - на исследовательском томографе 3,0 Т (Philips, 32-канальная катушка) в ФГБУН МТЦ СО РАН. Стандартный протокол [DWI-EPI (axi), FLAIR-SPIR (axi), T1W-TFE (3D)] дополнен фМРТ покоя (EPI-ISO): TR = 2500 мс, TE = 50 мс, угол отклонения = 90°; время сканирования 415 с (1,5 Т; толщина среза 4 мм, матрица 64×64) и 507 с (3,0 Т; толщина среза 2,5 мм, матрица 80×81, FOV 200×181 мм²). Параметры 3D-T1 (1,5 Т): TR = 7,5 мс, TE = 3,5 мс, угол отклонения = 8°, толщина среза 1,2 мм, матрица 228×226. Условия процедуры (положение лёжа на спине, беруши, фиксация головы, инструкция сохранять неподвижность с открытыми глазами, не засыпать и избегать целенаправленной умственной деятельности) были идентичны в обеих группах.

Предобработка данных rs-fMRI выполнена в CONN toolbox (v25.b) и SPM (25.01.02): коррекция движений, нормализация в пространство MNI, фильтрация и регрессия шумовых сигналов (белое вещество, ликвор, параметры движения). Функциональная связность (FC) оценена методом ROI-to-ROI корреляции для сетей SMN, DAN и SN (14

областей интереса атласа CONN, 91 парная связь); дополнительно рассчитан показатель фракционной амплитуды низкочастотных колебаний (fALFF).

Статистический анализ выполнен в программном обеспечении CONN; группы кодировались раздельными регрессорами, проведено межгрупповое сравнение. Вывод для ROI-to-ROI анализа проведён на уровне кластеров связей: порог связей $p < 0,01$, кластерный порог p-FDR < 0,05. Ковариатами выступили возраст, пол, сторона поражения и тип томографа.

Результаты и обсуждение. Обследовано 14 пациентов (54–84 года; 9 мужчин, 5 женщин) и 11 здоровых добровольцев (56–72 года, 3 мужчин, 8 женщин).

Предобработка выполнена для всех 25 наборов данных. У всех пациентов отмечена обрезка височных областей при сборе данных, учтённая при построении ROI; критических артефактов движения при визуальном контроле не выявлено.

При межгрупповом сравнении функциональной связности у пациентов выявлено значимое снижение FC в пяти кластерах связей (табл. 1), образующих два независимых компонента. Первый охватывает связи внутри салиентной сети - между ростральной префронтальной корой, передней поясной корой, передней инсулой и надкраевой извилиной билатерально. Второй включает связи внутри сенсомоторной сети (латеральные и верхние отделы), а также межсетевые связи SMN с внутритеменной бороздой (IPS) сети дорсального внимания. Значимых связей между SN и SMN/DAN не обнаружено.

Таблица 1.

Кластеры связей со значимым снижением функциональной связности у пациентов с ишемическим инсультом относительно здоровых добровольцев

Кластер	F	p-unc	p-FDR
1	F(1,23) = 23,39	0,00007	0,0010
2	F(1,23) = 13,59	0,0012	0,0090
3	F(2,22) = 8,53	0,0018	0,0090
4	F(2,22) = 7,27	0,0038	0,014
5	F(2,22) = 5,67	0,010	0,031

Примечание. F — статистика кластера с числом степеней свободы в скобках; p-unc — нескорректированный уровень значимости; p-FDR — после коррекции методом Бенджамини–Хохберга на уровне кластеров.

В диапазоне лёгкой и среднетяжёлой неврологической симптоматики (NIHSS 1–10, M = 4.1, SD = 2.7) линейной связи между острой клинической тяжестью и функциональной связностью в сетях DAN, SMN и SN не выявлено.

При межгрупповом сравнении fALFF (рис. 1) выявлено значимое снижение показателя у пациентов в четырёх кластерах (p-FDR < 0,05) с координатами пиков (+42, +8, +30), (0, +50, +8), (−46, +30, −2) и (−40, +20, +28), локализованных преимущественно во фронтальных отделах.

Сравнение подгрупп сверхострого (< 6 ч) и острейшего (6–24 ч) периодов инсульта не выявило различий ни по одному из показателей FC: при многомерном F-тесте с кластерным порогом p-FDR < 0,05 значимых кластеров различий между подгруппами не обнаружено.

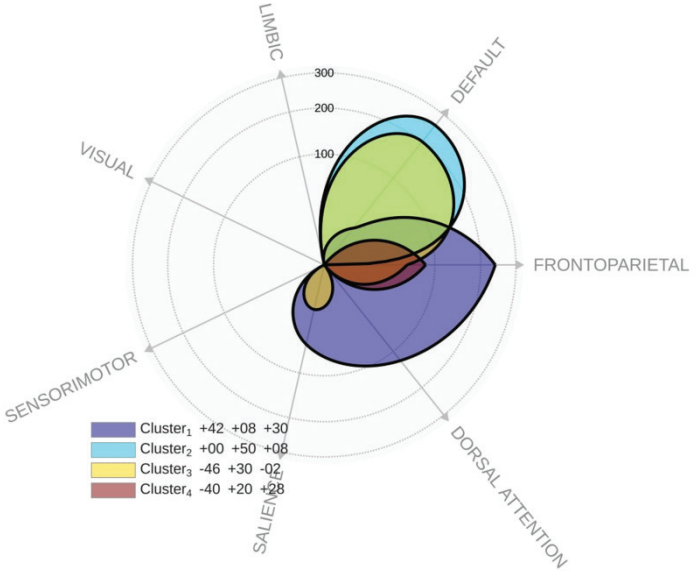


Рис.1.
Снижение fALFF у пациентов с инсультом относительно контрольной группы. Диаграмма отражает распределение объёма четырёх значимых кластеров по сетям покоя; в легенде указаны координаты пиков (MNI)

Возраст, пол и сторона поражения не вносили систематического вклада в наблюдаемые различия функциональной связности (p-FDR > 0,05).

Выявленные изменения распались на два независимых компонента: связи внутри салиентной сети (передняя инсула билатерально, передняя поясная и ростральная префронтальная кора, надкраевая извилина) и связи внутри сенсомоторной сети вместе с межсетевыми связями SMN–IPS. Такая картина согласуется с данными мета-анализа [2], описывающего внутрисетевую гипоконнективность в SN, SMN и DAN наряду с межсетевыми изменениями. Отсутствие значимых связей между SN и сенсомоторно-внимательным компонентом позволяет предположить, что в острейшем периоде страдает прежде всего внутрисетевая когерентность, тогда как интегративная роль SN как переключателя между сетевыми режимами [4] на этом этапе может оставаться относительно сохранной.

Линейной связи сетевых изменений с баллом NIHSS не выявлено. Шкала взвешена преимущественно на двигательный и речевой дефицит и не отражает функции, обеспечиваемые SN; кроме того, диапазон тяжести в выборке ограничен лёгкой и умеренной симптоматикой. Показано, что данные фМРТ, полученные на МР-томографе 1.5 Т, возможно успешно анализировать для оценки функциональной организации сетей головного мозга, тогда как в литературе используются преимущественно исследовательские системы 3,0 Тл и выше. Различий связности между подгруппами сверхострого (< 6 ч) и

острейшего периодов не выявлено, что позволяет выполнять исследование отсрочено, на 2–3-и сутки, не занимая время «терапевтического окна».

Ограничения исследования: объём выборки (14 пациентов и 11 добровольцев) допускает выявление лишь крупных эффектов, поэтому умеренная связь с тяжестью могла остаться необнаруженной; диапазон NIHSS 1–10 не позволяет распространять вывод на пациентов с тяжёлым дефицитом; задержка гемодинамического ответа в зоне гипоперфузии, способная имитировать снижение FC, не оценивалась [5]; часть ROI салиентной сети лежит в бассейне СМА, что не исключает влияние структурных изменений на сеть; обрезка височных областей ограничивает оценку височных сетей.

Выводы. В острейшем периоде ишемического инсульта выявлено системное снижение функциональной связности, затрагивающее связи внутри салиентной сети, а также связи внутри сенсомоторной сети и между SMN и DAN, наряду с угнетением спонтанной активности по данным fALFF, что согласуется с представлениями о коннекциональном диашизе. Выраженность изменений не была линейно связана с баллом NIHSS, что указывает на относительную независимость ранней сетевой дисфункции от градаций клинического дефицита.

Работа демонстрирует применимость фМРТ покоя на томографе 1,5 Тл в условиях регионального сосудистого центра и возможность отсроченного выполнения исследования в пределах острейшего периода.

Источник финансирования. Мы благодарим Министерство науки и высшего образования РФ за доступ к МРТ оборудованию.

Список литературы:

1. *Chen Q, Guo X, Zhong T, Yang J, Gao X, Hu Z, Li J, Liu J, Wang Y, Qu Z, Li W, Li Z, Li W, Huang Y, Chen J, Wen H, Zhang Y, Yuan B, Gao H. The Connectional Diaschisis and Normalization of Cortical Language Network Dynamics After Basal Ganglia and Thalamus Stroke. Neurobiol Lang (Camb). 2025 Sep 17;6:NOL.a.16. doi: 10.1162/NOL.a.16. PMID: 41000094; PMCID: PMC12459977.*
2. *Zhang Z. Network Abnormalities in Ischemic Stroke: A Meta-analysis of Resting-State Functional Connectivity. Brain Topogr. 2025 Jan 4;38(2):19. doi: 10.1007/s10548-024-01096-6. PMID: 39755830.*
3. *Sahrizan NSA, Yahya N, Law ZK, Wan Zaidi WA, Nabilah Ismail U, Afifah NH, Azri A, Abdul Manan H. A systematic review of alterations in sensorimotor networks following stroke: implications for integration and functional outcomes across recovery stages. Front Neurol. 2025 May 27;16:1456146. doi: 10.3389/fneur.2025.1456146. PMID: 40496121; PMCID: PMC12150405.*
4. *Menon V, Uddin LQ. Saliency, switching, attention and control: a network model of insula function. Brain Struct Funct. 2010;214(5-6):655-667. doi: 10.1007/s00429-010-0262-0. PMID: 20512370.*
5. *Siegel JS, Snyder AZ, Ramsey L, Shulman GL, Corbetta M. The effects of hemodynamic lag on functional connectivity and behavior after stroke. J Cereb Blood Flow Metab. 2016;36(12):2162-2176. doi: 10.1177/0271678X15614846. PMID: 26661223.*

ПРЕДИКТИВНОЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ НАКОПЛЕНИЯ ПРЕПАРАТА [^{99m}Tc]Tc-ADAPT6 В ОПУХОЛИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Романова А.А., Брагина О.Д., Таширева Л.А.

НИИ онкологии Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук, Томск

Предпосылки для исследования. Расширение показаний к анти-HER2-терапии обусловило необходимость поиска новых высокочувствительных методов оценки HER2-статуса и предикторов эффективности системного лечения. Одним из перспективных направлений является молекулярная визуализация с использованием HER2-специфических радиофармацевтических препаратов на основе синтетических каркасных белков.

Цель. Оценить связь параметров накопления препарата [^{99m}Tc]Tc-ADAPT6 в опухоли с клинико-морфологическими характеристиками, ответом на системную противоопухолевую терапию и показателями выживаемости у больных раком молочной железы.

Материал и методы. В исследование были включены 40 пациенток РМЖ (T2–4N1–3M0) до начала системнойтерапии, проходивших лечение в НИИ онкологии ТНИМЦ в период с 2020 по 2023 гг.HER2-положительный статус был установлен у 22 пациенток, отрицательный – у 18. Всем пациенткам вводился препарат [^{99m}Tc]Tc-ADAPT6 в дозировке протеина 500 мкг, через 2 ч выполнялось ОФЭКТ/КТ с оценкой SUVmax опухоли, контрлатерального участка противоположной молочной железы (фон), селезенки, печени и ШМС, а также рассчитывались соотношения опухоль/фон, опухоль/селезенка, опухоль/ШМС и опухоль/печень. Параметры накопления сопоставляли склинико-морфологическими параметрами, патоморфологическим ответом опухоли, развитием гематогенных метастазов и показателями общей и безрецидивной выживаемости). Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программ IBM SPSS Statistics v.20.0 и Statistica 10.0.

Результаты и обсуждение. Выявлена связь накопления препарата в опухоли с возрастом, менструальным статусом, экспрессией рецептора эстрогена и молекулярно-биологическим подтипом ($p<0,05$). Соотношение опухоль/ШМС с пороговым значением ≥16,85 (чувствительность 100 % и специфичность 85,71 %) прогнозировало неэффективность предоперационной терапии у больных с HER2-позитивным раком молочной железы ($p=0,0123$), асоотношение опухоль/печень с пороговым значением >3,114 (чувствительность 75 % и специфичность 85 %) ассоциировалось с риском гематогенного метастазирования и со снижением безметастатической и бессобытийной выживаемости ($p<0,01$).

Заключение. Параметры препарата [^{99m}Tc]Tc-ADAPT6 в опухоли до начала лечения обладают статистической значимостью с учетом основных клинико-морфологических параметров и могут служить маркерами неполного ответа опухоли на проведение НАХТ и развития гематогенных метастазов у больных раком молочной железы.

Предпосылки для исследования. Рецептор HER2 является одним из ключевых маркеров для разделения злокачественных опухолей молочной железы на молекулярно-биологические подтипы и определяющих тактику системной терапии и прогноз заболевания. Гиперэкспрессия HER2 отмечается у 15-20% больных РМЖ и ассоциируе-

ется с неблагоприятным прогнозом без назначения таргетной терапии [1]. Результаты DESTINY-Breast04 изменили представление об определении HER2-статуса и привели к пересмотру диагностических и терапевтических подходов, закреплённых консенсусом ESMO 2023 года [2]. В настоящее время актуальным является поиск новых дополнительных методов по оценке экспрессии HER2 и изучениию предикторов ответа опухоли на проведение предоперационной терапии. Перспективным является применение таргетных радиофармацевтических препаратов на основе синтетических каркасных протеинов. Положительные результаты I и II фаз исследований [^{99m}Tc]Tc-ADAPT6 определили потребность в изучении взаимосвязи аккумуляции РФП в опухоли с клинико-морфологическими параметрами, ответом на предоперационное лечение и показатели выживаемости у больных HER2-позитивным раком молочной железы [3,4].

Цель. Оценить связь накопления радиофармацевтического препарата [^{99m}Tc]Tc-ADAPT6 в опухоли с клинико-морфологическими характеристиками, ответом на системную противоопухолевую терапию и показателями выживаемости у больных раком молочной железы.

Материал и методы. Проведено одноцентровое ретроспективное исследование. В исследование было включено 40 пациенток с морфологически верифицированным РМЖ (T2-4N1–3M0) и метастатическим поражением аксиллярных лимфатических узлов до начала системного и локального лечения, проходивших лечение в НИИ Онкологии ТНИМЦ в период с 2020 по 2023 гг. Уровень экспрессии HER2 оценивался согласно рекомендациям ASCO/CAPот 2023 года (HER2-положительный статус установлен у 22 пациенток, HER2-отрицательный - у 18) [5]. Патоморфологический ответ опухоли на проведение предоперационной системной терапии оценивали по системе RCB (Residual Cancer Burden). Обследование и лечение пациентов было стандартным и соответствовало Российским клиническим рекомендациям. Период наблюдения составил 3 года. Всем пациенткам внутривенно вводили препарат [^{99m}Tc]Tc-ADAPT6 в дозировке протеина 500 мкг, через 2 ч выполняли ОФЭКТ/КТ органов грудной клетки и верхнего этажа брюшной полости. Во всех случаях определяли SUVmax опухоли, контрлатерального участка противоположной молочной железы (фон), селезенки, печени и ШМС, а также рассчитывались соотношения опухоль/фон, опухоль/селезенка, опухоль/ШМС и опухоль/печень. Параметры накопления сопоставляли с клинико-морфологическими параметрами (возраст, менструальный статус, размер опухоли, экспрессияРЭ, уровень Ki67, молекулярно-биологический подтип, патоморфологическим ответом, развитием гематогенных метастазов и показателями общей и безрецидивной выживаемости). Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программ IBM SPSS Statistics v.20.0 и Statistica 10.0.

Результаты и обсуждение. Параметры накопления препарата в опухоли не были связаны с её размером и уровнем Ki67. Выявлена связь накопления [^{99m}Tc]Tc-ADAPT6 с возрастом и менструальным статусом: у пациенток моложе 45 лет и с сохранённой менструальной функцией SUVmax опухоли, соотношения опухоль/печень, опухоль/ШМС имели большую статистическую значимость ($p<0,005$). При отрицательной экспрессии рецепторов эстрогена значение SUVmax опухоли, отношения опухоль/фон и опухоль/ШМС были выше, чем при положительной экспрессии ($p=0,0215$,$p=0,0290$ и $p=0,0046$ соответственно). Результаты статистического анализа продемонстрировали более высокие значения соотношений опухоль/фон и опухоль/ШМС у больных Люминальным В HER2-негативным подтипом РМЖ ($p=0,0262$) и у пациентов Люминальным

В HER2-позитивным подтипом РМЖ (p=0,0422 и p=0,010 соответственно). Дополнительно выявлено, что соотношение опухоль/ШМС с пороговым значением ≥16,85 (чувствительность 100 % и специфичность 85,71 %) прогнозировало неэффективность предоперационной терапии у больных с HER2-позитивным раком молочной железы (p=0,0123), а соотношение опухоль/печень с пороговым значением >3,114 (чувствительность 75 % и специфичность 85 %) ассоциировалось с риском гематогенного метастазирования и со снижением безметастатической и бессобытийной выживаемости (p< 0,01) (таблица 1, рисунок 1-3).

Таблица 1.

Диагностическая эффективность параметров [^{99m}Tc]Tc-ADAPT6 в HER2-положительной подгруппе

Прогнозируемое событие	Параметр и порог	AUC (95% ДИ)	Чувствительность, специфичность	p
non- pCR	Опухоль/ШМС ≥16,85	0,79 (0,60–0,98)	84,62%, 83,33%	0,0123
Гематогенное метастазирование	Опухоль/печень >3,114	0,82 (0,61–1,00)	75,0%, 85,71%	0,0454

Примечание: AUC — площадь под ROC-кривой; ДИ — доверительный интервал.

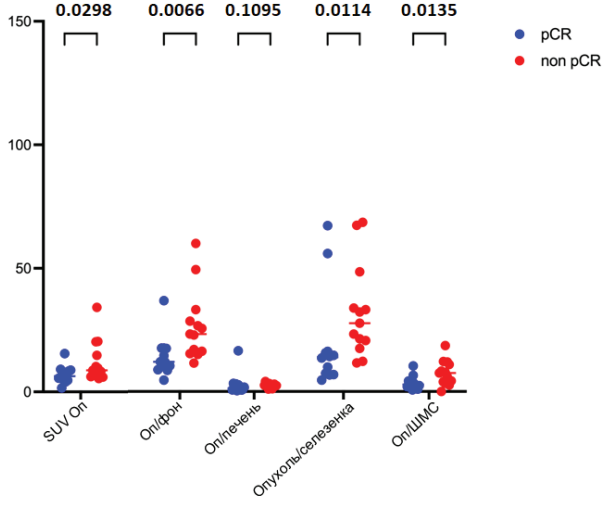


Рис.1.
Параметры накопления препарата [^{99}mTc]Tc-ADAPT6 в опухоли в зависимости от эффективности предоперационного лечения у больных HER2-позитивным раком молочной железы

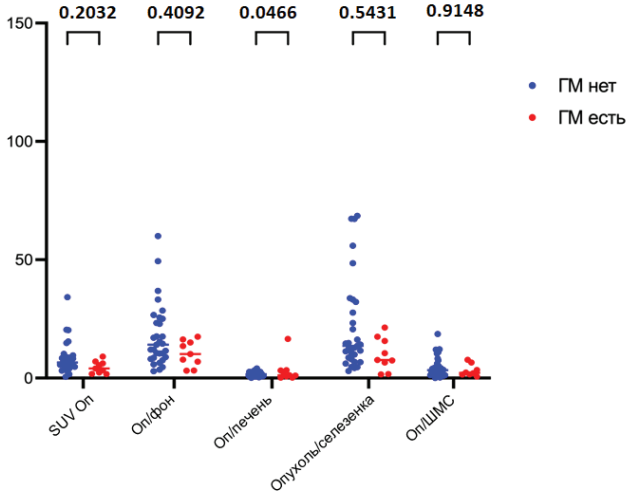


Рис.2.
Параметры накопления препарата [^{99}mTc]Tc-ADAPT6 в опухоли в зависимости от развития гематогенных метастазов у больных HER2-положительным РМЖ

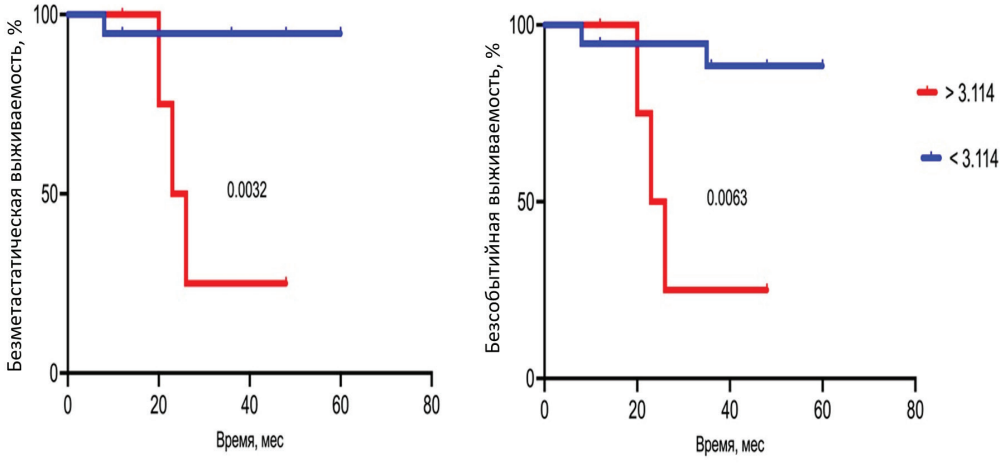


Рис.3.
Кривые безметастатической и бессобытийной выживаемости у больных РМЖ в зависимости от соотношения опухоль/печень при использовании препарата [^{99}mTc]Tc-ADAPT6

Изменение бинарного подхода в разделении опухолей молочной железы в зависимости от экспрессии HER2 и эффективность трастузумаба дерукстекана у больных с его низкой экспрессией потенцировали необходимость разработки и внедрения дополнительных диагностических опций в отношении данного молекулярного маркера [1, 2]. Положительные результаты I и II фаз исследований радиофармацевтического препарата [^{99m}Tc]Tc-ADAPT6 в диагностике распространенности опухолевого процесса и молекулярного HER2-типирования первичной опухоли и метастатических аксиллярных лимфатических узлов создали предпосылки для решения существующих актуальных проблем [3, 4].

Было изучено соотношение параметров накопления препарата [^{99m}Tc]Tc-ADAPT6 в опухоли с основными клинико-морфологическими параметрами. Результатами работы была продемонстрирована взаимосвязь накоплении препарата [^{99m}Tc]Tc-ADAPT6 в опухоли у больных раком молочной железы с возрастом пациенток, состоянием их менструальной функции, экспрессией рецептора эстрогена, а также молекулярно-биологическим подтипом рака молочной железы. При этом, большие статистические различия отмечались у больных моложе 45 лет при использовании соотношения опухоль/печень, в том числе и у больных с высокой экспрессией рецептора, с сохранной менструальной функцией с учетом соотношения опухоль/печень, а также у больных с отрицательной экспрессией рецептора эстрогена с более высокими показателями соотношения опухоль/ШМС.

Дополнительновыявлено, что соотношение опухоль/ШМС с пороговым значением ≥16,85 (чувствительность 100 % и специфичность 85,71 %) при использовании препарата [^{99m}Tc]Tc-ADAPT6 прогнозировало неэффективность предоперационной терапии убольных с HER2-позитивным раком молочной железы($p=0,0123$), а соотношение опухоль/печень с пороговым значением >3,114 (чувствительность 75 % и специфичность 85 %) ассоциировалось с риском гематогенного метастазирования и со снижением безметастатической и бессобытийной выживаемости ($p< 0,01$)

Выводы. Параметры накопления радиофармацевтического препарата [^{99m}Tc] Tc-ADAPT6 могут использоваться для прогнозирования ответа опухоли на предоперационную системную терапию, развитие гематогенных метастазов и показатели безметастатической и бессобытийной выживаемости.

Список литературы:

1. *Tomuleasa C, Tigu AB, Munteanu R, et al. Therapeutic advances of targeting receptor tyrosine kinases in cancer. Signal Transduct Target Ther. 2024;9(1):201. doi: 10.1038/s41392-024-01899-w.*
2. *Modi S., Jacot W., Yamashita T., Sohn J., Vidal M., Tokunaga E. et al. Trastuzumab Deruxtecan in Previously Treated HER2-Low Advanced Breast Cancer. N Engl J Med. 2022;387(1):9-20. DOI:10.1056/NEJMoa2203690*
3. *Bragina O, Tashireva L, Loos D, et al. Evaluation of Approaches for the Assessment of HER2 Expression in Breast Cancer by Radionuclide Imaging Using the Scaffold Protein [^{99m}Tc]TcADAPT6. Pharmaceutics. 2024;16(4):445. doi: 10.3390/pharmaceutics16040445*
4. *Брагина ОД, Деев СМ, Чернов ВИ, и др. Эволюция таргетной радионуклидной диагностики HER2позитивного рака молочной железы. ActaNaturae. 2022;2:415. doi: 10.32607/actanaturae.11611*

5. *Wolff AC, Hammond MEH, Hicks DG, et al. Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Update. J Cli nOncol. 2013;31(31):39974013. doi: 10.1200/JCO.2013.50.9984*

* * *

ВОЗМОЖНОСТИ ASL-ПЕРФУЗИИ В ОЦЕНКЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПОЧЕЧНОГО РЕЗЕРВА

Сюрина С.А.
Смоленский государственный медицинский университет, Смоленск

Предпосылки для исследования. Функциональный резерв почек (ФРП) отражает адаптационный потенциал почек и определяется изменением скорости клубочковой фильтрации (СКФ) после водно-белковой нагрузки. Более 10% расценивается как сохраненный ФРП, 5–10% — как сниженный, менее 5% — как отсутствующий. Возможность инструментальной оценки ФРП с помощью ASL-перфузии представляет интерес для раннего выявления снижения функции почек.

Цель. Оценить возможности ASL-перфузии в оценке функционального почечного резерва.

Материалы и методы. Исследованы 16 пациентов нефрологического отделения с СКФ ≤60 мл/мин/1,73 м² и 28 здоровых добровольцев. До и через 60 минут после водно-белковой нагрузки определяли креатинин сыворотки крови с расчетом СКФ и выполняли МРТ органов брюшной полости и забрюшинного пространства с количественной оценкой ASL-перфузии почек. ФРП рассчитывали по формуле: (R2–R1)/R1×100%, где R1 — исходная СКФ, R2 — СКФ после нагрузки. Статистическая обработка выполнена в Jamovi 2.6.26.

Результаты и обсуждение. У здоровых добровольцев исходная СКФ составила 89,3 ± 4,25 мл/мин/1,73 м², после нагрузки — 104,3 ± 5,36 мл/мин/1,73 м², ФРП — 16,8 ± 1,3%. В исследуемой группе исходная СКФ составила 52,2 ± 7,1 мл/мин/1,73 м², после нагрузки — 56,3 ± 4,4 мл/мин/1,73 м², ФРП — 7,6 ± 1,9%. ASL-перфузия до и после нагрузки составила соответственно 475,9 ± 28,4 и 523,1 ± 19,6 мл/100 г/мин у здоровых добровольцев и 223,17 ± 9,2 и 229,35 ± 26,11 мл/100 г/мин в исследуемой группе. ФРП по данным ASL-перфузии составил 13,4 ± 1,2% и 5,8 ± 3,2% соответственно.

Выводы. ASL-перфузия позволяет количественно оценивать почечный кровоток и выявлять различия функционального состояния почек после нагрузки. Методика может использоваться для оценки ФРП и выявления снижения почечной функции.

Предпосылки для исследования. Функциональный резерв почек (ФРП) – это адаптационный потенциал, позволяющий увеличивать скорость клубочковой фильтрации (СКФ) в ответ на водно-белковую нагрузку. Существуют различные методики оценки ФРП, сходящиеся к тому, что результатом является разница между базальной и стимулированной СКФ. Стимулированную СКФ получают после применения либо белковой нагрузки, либо водной. Разница в показателях более 10% расценивается как сохраненный ФРП, 5–10% — сниженный и менее 5% — отсутствующий. На момент исследования не найдено в доступных источниках литературы инструментального метода, позволяющего оценить ФРП. Поскольку ASL-перфузия позволяет оценивать кровоток, было предположено, что при проведении пациенту одной из методик стимуляции СКФ, при наличии высокого адаптационного потенциала, количественный показатель ASL-перфузии будет возрастать. Необходимость оценки ФРП связана с возможностью раннего выявления

субклинических форм хронической болезни почек (ХБП). Применение ASL-перфузии позволит оценить стадию ХБП и адаптационный потенциал почек у пациентов.

Цель. Оценить возможности ASL-перфузии в оценке функционального почечного резерва.

Материалы и методы. На базе ОГБУЗ «Клиническая больница №1» Смоленска исследовано 16 пациентов нефрологического отделения с СКФ ≤60 мл/мин/1,73 м². Группа контроля – 28 здоровых добровольцев. Всем исследуемым оценивался креатинин сыворотки крови с оценкой СКФ при поступлении и далее после проведения пробы с белковой нагрузкой, проводилось МРТ органов брюшной полости и забрюшинного пространства с оценкой количественного показателя ASL-перфузии почек. Исследование проводилось на аппарате Toshiba Vantage Titan, 1,5 Тл, протокол включал аксиальную и корональную T2 ВИ, Ax T1 in/out phase, Ax T2 FsВИ, Ax T2-ВИ pre-ASL, Ax 3D ASL TI = 1800, Ax 3D ASL TI = 2600. Время исследования 17 минут с последующей постпроцессинговой обработкой, которая заключалась в выделении зоны интереса (ROI) по почечным паренхимам при помощи меню функции polygon. Водно-белковая нагрузка заключалась в предварительном употреблении жидкости внутрь в объеме 20 мл/кг массы тела, употреблении белковой смеси в объеме 1 г/кг массы тела. Лабораторный и инструментальный контроль проводился перед нагрузкой и далее через 60 минут после. Оценка ФРП проводилась по формуле: (R2–R1)/R1×100%, где R1 – исходная СКФ, R2 – СКФ после водно-белковой нагрузки. Статистическая обработка проводилась при помощи пакета Jamovi 2.6.26.

Результаты и обсуждение. Расчетная СКФ у здоровых добровольцев составила 89,3 ± 4,25 мл/мин/1,73 м² до нагрузки. После нагрузки: СКФ = 104,3 ± 5,36 мл/мин/1,73 м². ФРП составил 16,8 ± 1,3%. В исследуемой группе до нагрузки СКФ 52,2 ± 7,1 мл/мин/1,73 м². После нагрузки: СКФ = 56,3 ± 4,4 мл/мин/1,73 м². ФРП составил 7,6 ± 1,9%. В таблице 1 представлены результаты ASL-перфузии почек здоровых добровольцев и исследуемой группы.

Таблица 1.

Результаты ASL-перфузии здоровых добровольцев и исследуемой группы.

Здоровые добровольцы, n = 28		**Исследуемая группа, n = 16**	
До нагрузки	После нагрузки	До нагрузки	После нагрузки
475,9 ± 28,4*	523,1 ± 19,6*	223,17 ± 9,2*	229,35 ± 26,11*

** результат ASL-перфузии, мл/100 г/мин.*

ФРП здоровых добровольцев составил 13,4 ± 1,2%, исследуемой группы: 5,8 ± 3,2%. В динамическом наблюдении в исследуемой группе у 4 пациентов отмечается снижение СКФ до 32,2 ± 6,4 мл/мин/1,73 м² через 6 месяцев. ФРП составил 4,2 ± 1,1%, ASL-перфузия 207,3 ± 8,6 мл/100 г/мин. В группе здоровых добровольцев показатель СКФ коррелировал с результатами ASL-перфузии ($r = 0,864$, $p<0,05$), в исследуемой группе также отмечалась высокая корреляция до ($r = 0,872$, $p<0,05$) и после ($r = 0,855$, $p<0,05$) нагрузки между показателями СКФ и ASL-перфузии.

Способность здоровых почек реагировать на нагрузку повышением СКФ характеризуется ФРП. При истощении клубочкового аппарата происходит постепенное сни-

жение данного показателя. Механизм воздействия белковой нагрузки на клубочковый аппарат заключается в дилатации приносящих артериол, увеличением реабсорбции натрия и хлоридов, что активирует механизмы обратной тубуло-гломерулярной связи без значимого изменения эффективного плазмотока. ASL-перфузия относится к функциональной МРТ, которая позволяет оценивать артериальный почечный кровоток на микроциркуляторном уровне. Несмотря на длительность исследования, методика позволяет оценивать ФРП и выявлять снижение почечной функции.

Выводы. Критерии ASL-перфузии здоровых добровольцев составляют: 475,9 ± 28,4 мл/100 г/мин. Показатели у пациентов со сниженной СКФ составляют 223,17 ± 9,2 мл/100 г/мин. Применение ASL-перфузии почек позволяет выявить ХБП ($r = 0,872$, $p<0,05$) и оценить ФРП у пациентов ($r = 0,855$, $p<0,05$).

Список литературы:

1. *Шкуратова Ю.Ю., Морозова Т.Г., Гельт Т.Д. Прогностическая значимость диффузионно-взвешенных изображений и ASL-перфузии почек в оценке прогрессирования хронической почечной недостаточности. Радиология — практика. 2024;(4):41–54. https://doi.org/10.52560/2713-0118-2024-4-41-54*
2. *Taso M., Aramendía-Vidaurreta V., Englund E.K., Francis S., Franklin S., Madhuranthakam A.J., Martirosian P., Nayak K.S., Qin Q., Shao X., Thomas D.L., Zun Z., Fernández-Seara M.A. Update on state-of-the-art for arterial spin labeling (ASL) human perfusion imaging outside of the brain. Magnetic Resonance in Medicine. 2023;89(5):1754–1776. https://doi.org/10.1002/mrm.29609*
3. *Арьев А.Л., Тараненко Е.А., Чистякова Ю.Г. RU98105760A1998-03-24. Способ диагностики функционального почечного резерва (патент на изобретение).*
4. *Хуснутдинова Л.А., Максудова А.Н., Салихов И.Г. Значение функционального почечного резерва при хронических заболеваниях почек // Казанский медицинский журнал. 2009. №3.*

* * *

КТ-ОЦЕНКА КАРОТИДНЫХ ПАРАГАНГЛИОМ ДЛЯ ПЛАНИРОВАНИЯ ХИРУРГИЧЕСКОГО ВМЕШАТЕЛЬСТВА

Тамаева С.М.

Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А.В. Вишневского, Москва

Предпосылки к проведению исследования. Каротидные параганглиомы - редкие гиперваскулярные опухоли в области бифуркации общей сонной артерии. Их резекция сопряжена с риском кровотечения и повреждения черепных нервов. Классификация Shamblin отражает взаимоотношение опухоли с сонными артериями, однако для оценки неврологического риска требуется анализ её краниального распространения.

Цель. Оценить связь КТ-параметров с интраоперационной кровопотерей и послеоперационным парезом возвратного гортанного нерва при хирургическом лечении каротидных параганглиом.

Материал и методы. Проведён ретроспективный анализ 49 КТ-исследований пациентов с параганглиомами шеи, выполненных в 2020-2026 гг. Основную группу составили 19 пациентов с гистологически подтверждённой каротидной параганглиомой после операции. КТ-ангиографию выполняли в артериальную фазу на системах Philips с толщиной среза 0,8-0,9 мм. Оценивали тип Shamblin, максимальный размер опухоли, циркулярный контакт с внутренней сонной артерией (ВСА), расстояние от верхнего полюса опухоли до основания черепа (РВОЧ).

Результаты и обсуждение. Женщины составили 57,9% выборки; средний возраст - 53,3±15,5 года. Опухоли Shamblin II и III выявлены у 57,9% и 36,8% пациентов соответственно. Средний размер опухоли составил 43,2±15,1 мм, среднее РВОЧ - 45,7±27,6 мм. Послеоперационный парез возвратного гортанного нерва зарегистрирован у 5/19 (26,3%) пациентов. При РВОЧ ≤30 мм частота пареза составила 60,0%, при РВОЧ >30 мм - 16,7%. Частота пареза при Shamblin II и III была сопоставимой: 27,3% и 28,6%. У 17/19 (89,5%) пациентов кровопотеря не превышала 50 мл; предоперационная эмболизация не проводилась.

Выводы. РВОЧ - практически значимый параметр КТ-ангиографии, который дополняет классификацию Shamblin при стратификации риска повреждения нерва. Его обязательное измерение позволяет рентгенологу сформировать для сосудистого хирурга ориентированное на риск предоперационное заключение.

Предпосылки к проведению исследования. Каротидные параганглиомы развиваются из каротидного тельца и относятся к наиболее частым параганглиомам головы и шеи. Несмотря на преимущественно доброкачественное течение, их хирургическое лечение технически сложно вследствие гиперваскулярности опухоли, тесных взаимоотношений с бифуркацией сонных артерий и близости каудальной группы черепных нервов. По данным систематического анализа, послеоперационный неврологический дефицит остаётся клинически значимым осложнением резекции [1].

КТ-ангиография позволяет одномоментно визуализировать опухоль, сонные артерии и основание черепа, определить вариант хирургического доступа и оценить риск. Классификация Shamblin широко используется для характеристики степени вовлечения сонных артерий, но преимущественно отражает сосудистую сложность вмешательства. Современные исследования показывают, что вертикальное распространение опухоли и расстояние до основания черепа имеют самостоятельное значение для прогноза повреждения черепных нервов [2-4].

Цель. Оценить прогностическую значимость КТ-параметров - типа Shamblin, степени контакта с ВСА, максимального размера опухоли и РВОЧ - в отношении интраоперационной кровопотери и послеоперационного пареза возвратного гортанного нерва при резекции каротидных параганглиом.

Материалы и методы. Проведено ретроспективное одноцентровое исследование. При архивном поиске выявлено 49 КТ-исследований пациентов с установленной или предполагаемой параганглиомой шеи, выполненных в ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России с января 2020 г. по июнь 2026 г. В основной анализ включены 19 пациентов с гистологически подтверждённой каротидной параганглиомой, предоперационной КТ-ангиографией и полными интраоперационными данными. Вагальные параганглиомы, послеоперационные исследования и случаи без хирургического лечения в основную группу не включали.

КТ-ангиографию выполняли на Philips Ingenuity CT 128, Philips Brilliance CT 64 и Philips IQon Spectral CT в одну артериальную фазу с автоматическим болюс-трекингом. Вводили ультравист 370 мг/мл с последующей болюсной инъекцией 40 мл физиологического раствора, со скоростью 3,5-4,5 мл/с. Толщина реконструированного среза составляла 0,8-0,9 мм. Использовали аксиальные, коронарные и сагиттальные MPR, а также 3D-VRT.

На аксиальных изображениях определяли тип Shamblin, максимальный размер опухоли и максимальную степень циркулярного контакта с ВСА; на сагиттальных MPR измеряли РВОЧ как кратчайшее расстояние от краниального полюса опухоли до костных структур основания черепа. Из медицинской документации получали сведения о доступе, кровопотере, предоперационной эмболизации и неврологических осложнениях. Непрерывные показатели представлены как M±SD, медиана и диапазон; категориальные - как n (%). Ввиду малой выборки выполнен описательный кросс-табуляционный анализ.

Результаты и обсуждение. В исследование вошли 11 женщин (57,9%) и 8 мужчин (42,1%); средний возраст составил 53,3±15,5 года, медиана -55 лет (22-78 лет). Правосторонняя локализация выявлена у 12 (63,2%) пациентов, левосторонняя - у 5 (26,3%), двусторонняя - у 2 (10,5%). Тип Shamblin I определён у 1 (5,3%), II -у 11 (57,9%), III - у 7 (36,8%) пациентов.

Средний максимальный размер опухоли по КТ составил 43,2±15,1 мм (медиана 40 мм; диапазон 20-73 мм). Среднее РВОЧ составило 45,7±27,6 мм (медиана 40 мм; диапазон 13-130 мм). Контакт с ВСА более 50% определён у 8 (42,1%) пациентов, 50% и менее - у 9 (47,4%); в 2 случаях параметр не оценивали.

Таблица 1.

Основные КТ-характеристики каротидных параганглиом (n=19)

Параметр	Значение
Shamblin I / II / III, n	1 / 11 / 7
Максимальный размер опухоли, мм, M±SD	43,2±15,1
РВОЧ, мм, M±SD	45,7±27,6
Контакт с ВСА >50%, n (%)	8 (42,1)

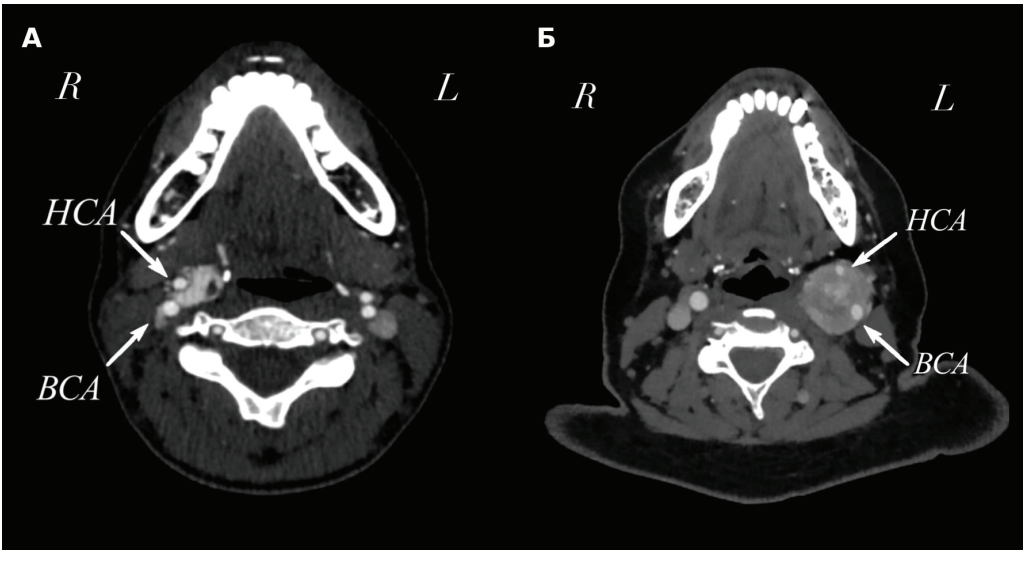


Рис.1.
КТ-ангиография, аксиальные срезы: гиперваскулярные каротидные параганглиомы с расхождением наружной и внутренней сонных артерий (симптом «лиры»)

Все операции выполнены трансцервикальным доступом: антеюгулярным - 12 (63,2%), ретроюгулярным - 6 (31,6%), стандартным - 1 (5,3%). Эмболизацию питающих сосудов не применяли. Кровопотеря не превышала 50 мл у 17 (89,5%) пациентов; у 2 (10,5%) она составила 200 мл. Оба случая кровопотери 200 мл наблюдались при Shamblin III и контакте с ВСА более 50%.

Парез возвратного гортанного нерва зарегистрирован у 5 (26,3%) пациентов; в четырёх случаях он подтверждён ларингоскопически. Среднее РВОЧ в группе с парезом составило 27,0 мм, без осложнения - 53,5 мм. В подгруппе с доступным измерением РВОЧ ≤30 мм парез выявлен в 3 из 5 наблюдений (60,0%), при РВОЧ >30 мм - в 2 из 12 (16,7%). При Shamblin II и III частота пареза была сходной - 3/11 (27,3%) и 2/7 (28,6%) соответственно.

Таблица 2.

КТ-параметры и послеоперационный парез возвратного гортанного нерва

КТ-параметр	Группа	Парез, n/N (%)
РВОЧ	≤30 мм	3/5 (60,0)
РВОЧ	>30 мм	2/12 (16,7)
Shamblin	II	3/11 (27,3)
Shamblin	III	2/7 (28,6)



Рис.2.
КТ-ангиография, сагиттальный MPR: оценка краниального распространения каротидной параганглиомы к основанию черепа при измерении РВОЧ

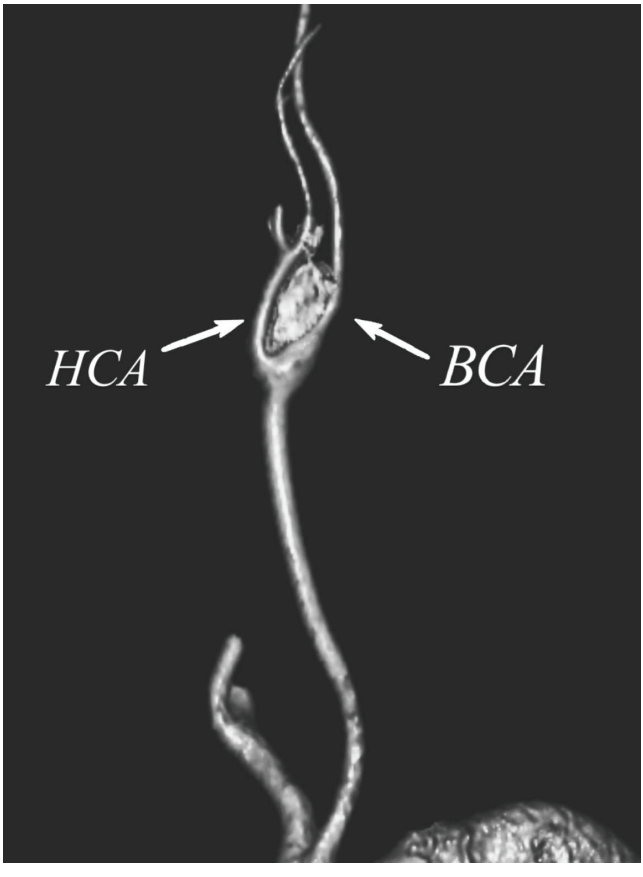


Рис.3.
3D-VRT КТ-ангиография: пространственные взаимоотношения каротидной параганглиомы и ветвей сонной артерии, значимые для выбора хирургического доступа

В представленной серии доля женщин, возраст пациентов и частота двустороннего поражения сопоставимы с данными крупных обзоров [1]. Преобладание опухолей Shamblin II–III (94,7%) можно объяснить направлением в специализированный хирургический центр преимущественно пациентов с распространёнными образованиями.

Главным практическим результатом стала связь малого РВОЧ с частотой послеоперационного пареза возвратного гортанного нерва. При пороге ≤30 мм осложнение отмечено у 60,0% пациентов, тогда как при РВОЧ >30 мм - у 16,7%. Это наблюдение согласуется с данными Ivanjko и соавт., показавших независимую прогностическую роль расстояния до основания черепа при резекции каротидных опухолей [2]. Wen и соавт. также подтвердили, что уменьшение длины свободного дистального сегмента ВСА ассоциировано с постоянным повреждением черепных нервов [3]. В работе Alanezi и соавт. РВОЧ и объём опухоли повышали точность предоперационного прогноза осложнений по сравнению с изолированным использованием Shamblin [4].

Сходная частота пареза при Shamblin II и III в нашей серии показывает, что эта классификация не должна быть единственным критерием неврологического риска. Она сохраняет значение для характеристики артериального вовлечения, объёма сосудистого этапа и ожидаемой кровопотери. В частности, оба случая кровопотери 200 мл в настоящем исследовании зарегистрированы при Shamblin III и контакте с ВСА >50%. Однако для планирования безопасной дистальной диссекции и информирования пациента о риске дисфонии рентгенологу необходимо дополнительно сообщать РВОЧ.

Предлагаемый минимальный набор КТ-параметров для протокола при каротидной параганглиоме включает: сторону поражения; размеры и краниокаудальное распространение опухоли; тип Shamblin; процент циркулярного контакта с ВСА; РВОЧ; состояние дистального сегмента ВСА; наличие двустороннего поражения. Такой структурированный подход обеспечивает воспроизводимую передачу значимой для хирурга КТ-информации; комбинированная оценка размера опухоли, РВОЧ и Shamblin также поддерживается современными исследованиями [5].

Ограничениями являются ретроспективный дизайн, небольшое число наблюдений и описательный характер статистики. Поэтому выявленная ассоциация не устанавливает самостоятельного порогового значения риска, но поддерживает обязательное измерение РВОЧ при КТ-ангиографии.

Выводы.

КТ-ангиография с MPR и 3D-VRT обеспечивает анатомическую информацию, непосредственно необходимую для подготовки резекции каротидной параганглиомы. Оценка должна включать не только тип Shamblin и контакт с ВСА, но и РВОЧ. В нашей серии при РВОЧ ≤30 мм парез возвратного гортанного нерва отмечался в 3,6 раза чаще, чем при большем расстоянии. РВОЧ следует рассматривать как обязательный параметр КТ-протокола, позволяющий сформировать для сосудистого хирурга прогноз неврологического риска и обосновать выбор доступа.

Список литературы:

1. *Wang YH, Yang J, Zhong H, et al. Prevalence, characteristics, evaluation, and management of carotid body tumors: systematic analysis based on available evidence. J Vasc Surg. 2024;80(2):574–585.e4. doi:10.1016/j.jvs.2024.03.443.*
2. *Ivanjko F, Neumayer C, Domenig CM, et al. Effect of distance to the base of skull and tumor size characteristics on cranial nerve injuries in carotid body tumor resections. J Vasc Surg. 2023;77(2):523–528. doi:10.1016/j.jvs.2022.09.001.*
3. *Wen D, Li Y, Jiang Z, et al. A new potential risk factor for permanent cranial nerve injury following carotid body tumor resection. Quant Imaging Med Surg. 2023;13(5):2934–2945. doi:10.21037/qims-22-464.*
4. *Alanezi T, Alotaibi A, Almutairi N, et al. Preoperative radiological features in predicting complications of carotid body tumor resection. J Vasc Surg. 2025;81(3):665–671.e2. doi:10.1016/j.jvs.2024.11.008.*
5. *Johari HG, Shahraki-Mojahed L, Johari MG, et al. Association of complications during and after carotid body tumor resection with tumor size, distance to the base of skull, and Shamblin score. Ann Vasc Surg. 2023;94:223–228. doi:10.1016/j.avsg.2023.02.032.*

КТ- И МРТ-ОЦЕНКА СТРУКТУРЫ НЕКРОТИЧЕСКИХ СКОПЛЕНИЙ КАК КРИТЕРИЙ ВЫБОРА ЛЕЧЕБНОЙ ТАКТИКИ ПРИ ДЕСТРУКТИВНОМ ПАНКРЕАТИТЕ

Титов М.Ю.

Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Московский многопрофильный научно-клинический центр имени С.П. Боткина, Москва

Аннотация. Предпосылки для исследования. Компьютерная томография (КТ) является основным методом визуализации деструктивного панкреатита, однако в позднюю фазу заболевания её возможности в оценке соотношения жидкостного и плотного некротического компонентов ограничены. Структура некротических скоплений потенциально определяет особенности их естественной динамики и эффективность дренирования. Роль количественной оценки секвестров как прогностического критерия и показания к дополнительному применению магнитно-резонансной томографии (МРТ) остаётся недостаточно изученной.

Цель. Оценить клиническое и прогностическое значение доли секвестров в структуре некротических скоплений, её влияние на динамику скоплений и эффективность чрескожного катетерного дренирования (ЧКД), а также диагностическую эффективность КТ и МРТ в выявлении секвестров.

Материал и методы. В одноцентровое проспективное когортное исследование включены 295 пациентов с деструктивным панкреатитом; проанализировано 1117 исследований: 989 КТ и 128 МРТ. У 222 пациентов поздней фазы полуколичественно определяли долю секвестров в основном некротическом скоплении. Естественную динамику оценивали по 409 КТ-измерениям у 173 пациентов до первого вмешательства. Результаты КТ и МРТ сопоставляли с данными вмешательств и патологоанатомического исследования.

Результаты и обсуждение. При доле секвестров ≥30% тяжёлое течение выявлено у 84,2% пациентов против 43,8% при <30% (ОШ 6,82; p<0,001), медиана госпитализации составила 38 против 18 суток, хирургическое лечение потребовалось в 95,0% против 48,8% случаев. К 4-й неделе скопления с <30% секвестров уменьшались в среднем на 18,1 мм, тогда как при ≥30% значимой регрессии не отмечено. Через 2 недели после ЧКД остаточный размер составлял 42,1% и 67,0% от исходного соответственно (p<0,001). Чувствительность КТ и МРТ в выявлении секвестров составила 65,4% и 93,2%, точность – 77,5% и 92,3%.

Заключение. Доля секвестров ≥30% ассоциирована с замедленной регрессией некротических скоплений, более тяжёлым течением и меньшей эффективностью ЧКД. МРТ существенно превосходит КТ по чувствительности в выявлении секвестров и целесообразна для уточнения структуры скоплений в позднюю фазу при планировании вмешательства.
Источник финансирования. Нет.

Предпосылки для исследования. Деструктивный панкреатит характеризуется последовательной эволюцией некроза поджелудочной железы и перипанкреатической клетчатки с формированием некротических скоплений [1]. Современная тактика лечения инфицированных и клинически значимых скоплений основана на отсроченном поэтапном подходе с переходом от малоинвазивного дренирования к вмешательствам, позволяющим выполнить некрсеквестрэктомию [2]. КТ остается основным методом диагностики и динамического наблюдения, однако в позднюю фазу ограниченно дифференцирует жидкостный и плотный некротический компоненты. Это важно при планировании пассивного чрескожного катетерного дренирования, удаляющего преимущественно жидкую часть скопления. Количественное соотношение жидкостного и плотного компонентов не входит в стандартизированные критерии выбора лечебной тактики. Вместе с тем в отдельных исследованиях объем некротического детрита был связан с необходимостью повторных эндоскопических вмешательств и перехода к поэтапному лечению [3, 4]. Недостаточно изучены взаимосвязь доли секвестров с динамикой и клиническими исходами, а также возможности КТ и МРТ в оценке этого признака.

Цель. Оценить клиническое и прогностическое значение доли секвестров в структуре некротических скоплений, её влияние на естественную динамику и эффективность ЧКД, а также диагностическую эффективность КТ и МРТ в выявлении секвестров.

Материал и методы. В одноцентровое проспективное когортное исследование включены 295 пациентов с деструктивным панкреатитом; проанализировано 989 КТ и 128 МРТ. КТ являлась основным методом динамического наблюдения, МРТ с Т2-взвешенными изображениями выполнялась преимущественно для уточнения структуры скоплений. Во вторую фазу заболевания у 222 пациентов оценивали основное, наиболее крупное или клинически значимое скопление. Долю секвестров определяли полуколичественно как отношение площади плотного компонента к площади скопления на трёх срезах. Первоначально выделяли группы 0, 1–29, 30–69 и 70–100% секвестров. Наиболее выраженное изменение клинических показателей отмечено при достижении 30%, поэтому этот порог использовали для основного анализа. Естественную динамику размеров оценивали по КТ, выполненным до первого вмешательства. В линейную смешанную модель вошли 409 измерений у 173 пациентов. Эффективность ЧКД оценивали по динамике размеров скоплений относительно исследования непосредственно перед вмешательством. Для оценки диагностической эффективности данные КТ и МРТ сопоставляли с результатами оперативных и эндоскопических вмешательств и патологоанатомического исследования. В анализ выявления секвестров вошли 160 КТ- и 65 МРТ-исследований. Рассчитывали чувствительность, специфичность и точность с 95% доверительными интервалами; различия считали статистически значимыми при $p<0,05$.

Результаты и обсуждение. Анализ четырёх исходных групп показал пороговый характер влияния доли секвестров на клиническое течение: наиболее существенное ухудшение показателей происходило при увеличении их объёма от 1–29% до 30–69%. Поэтому для дальнейшего анализа пациентов объединили в группы <30% и ≥30%. Наличие ≥30% секвестров характеризовало существенно более неблагоприятный вари-

ант течения. Частота тяжёлого течения была почти вдвое выше, медиана госпитализации увеличивалась более чем в два раза, хирургическое лечение требовалось практически всем пациентам, а среди оперированных более чем в четыре раза возрастала частота многоэтапного лечения. Летальность также была более чем втрое выше. Шансы тяжёлого течения при ≥30% секвестров увеличивались в 6,82 раза (95% ДИ 3,58–12,97; p<0,001), многоэтапного хирургического лечения – в 8,55 раза (95% ДИ 3,66–19,97; p<0,001), летального исхода – в 3,53 раза (95% ДИ 1,41–8,84; p=0,005) (табл. 1).

Таблица 1.

Сравнительная характеристика клинического течения деструктивного панкреатита в зависимости от объёма секвестров

	1 группа 0% (n=35)	2 группа 1-29% (n=86)	3 группа 30-69% (n=79)	4 группа 70-100% (n=22)
Тяжёлое течение, пациентов	13 (37,1%)	40 (46,5%)	67 (84,8%)	18 (81,8%)
Летальность, пациентов	1 (2,9%)	6 (7,0%)	14 (17,7%)	4 (18,2%)
Хирургическое лечение, пациентов	11 (31,4%)	48 (55,8%)	75 (94,9%)	21 (95,5%)
Этапное хирургическое лечение (≥2 этапов)	0/11 (0%)	8/48 (16,7%)	38/75 (50,7%)	17/21 (81,0%)
Длительность первичной госпитализации, дней, Me [Q1; Q3]	17,8 [15,0; 22,0]	18,0 [15,0; 26,0]	36 [21,5; 55,5]	45 [24,5; 68,25]
Повторные госпитализации, пациентов	4/34 (11,8%)	24/80 (30,0%)	22/65 (33,8%)	7/18 (38,9%)

Скопления с долей секвестров <30% после увеличения размеров на 2-й неделе в дальнейшем демонстрировали отчётливую регрессию, тогда как при ≥30% их размеры после достижения максимума оставались практически стабильными. К 4-й неделе при <30% секвестров размер уменьшался в среднем на 18,1 мм (95% ДИ 10,2–26,1; p<0,001), тогда как при ≥30% – только на 2,0 мм, без статистически значимой динамики (p=0,555) (рис. 1).

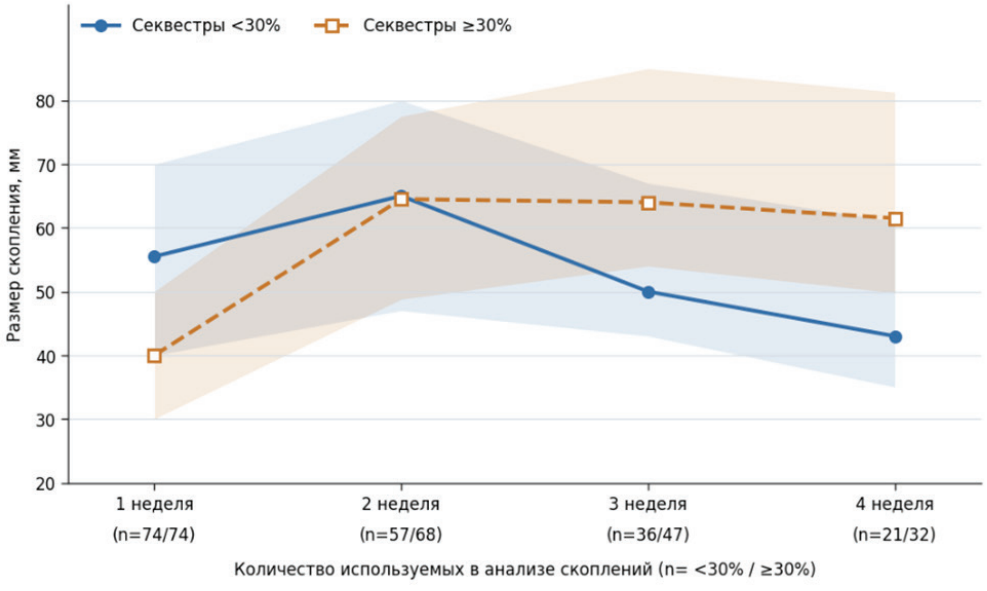


Рис.1.
Динамика размеров перипанкреатических скоплений до первого хирургического вмешательства в зависимости от объёма секвестров

Практическое значение уточнения структуры скопления продемонстрировано на клиническом примере (рис. 2): при КТ секвестры занимали менее 30% объёма отграниченного некроза, тогда как МРТ показала их распространение примерно на половину полости. С учётом большого объёма плотного компонента и парагастральной локализации было выполнено первичное эндоскопическое дренирование с формированием цистогастроанастомоза, минуя этап ЧКД. Такой выбор соответствует полученным результатам о снижении эффективности ЧКД при ≥30% секвестров: переход к более инвазивному этапу в этой группе требовался в 77,2% случаев, а уменьшение скопления ≥50% за 28 суток достигалось лишь у 10,2% пациентов.

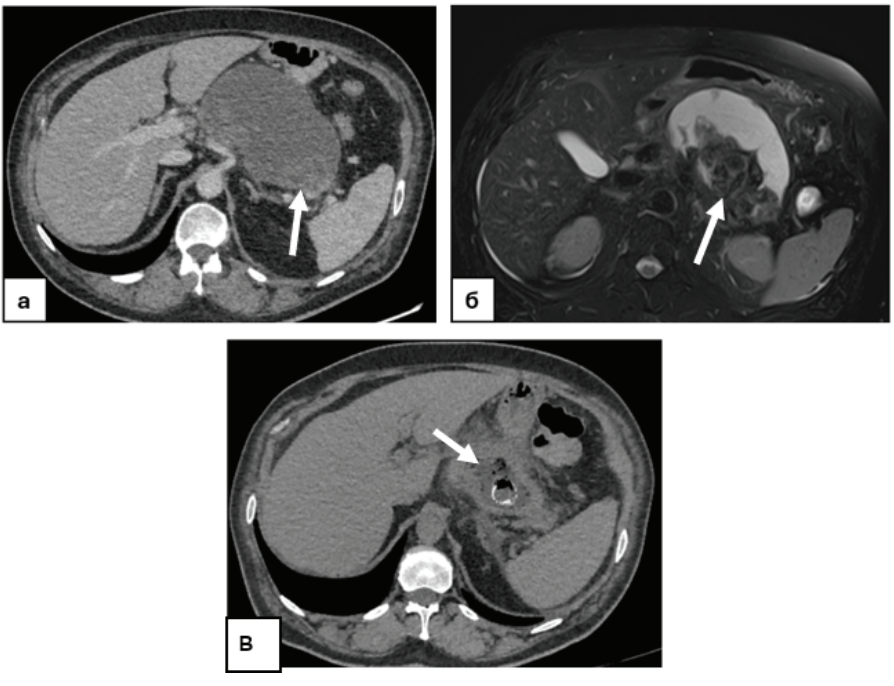


Рис.2.
Отграниченный некроз тела и хвоста поджелудочной железы. Эффективное эндоскопическое лечение без предварительного ЧКД при большой доле секвестров.
КТ, аксиальная плоскость (А, В); МРТ, аксиальная плоскость, Т2-ВИ (Б).
А. 6-я неделя заболевания (2-я фаза). В просвете скопления вдоль задней стенки определяются секвестры повышенной плотности, занимающие около четверти объёма.
Б. 6-я неделя заболевания (2-я фаза). На Т2-ВИ гипоинтенсивные секвестры на фоне гиперинтенсивной жидкости визуализируются в большем объёме, занимая около половины полости.
В. 8-я неделя заболевания. КТ после формирования цистогастроанастомоза и установки нитинолового стента: значительное уменьшение объёма отграниченного некроза

При сопоставлении с референсными данными чувствительность КТ в выявлении секвестров составила 65,4% (95% ДИ 54,6–74,9%), специфичность – 89,9%, точность – 77,5%. Для МРТ соответствующие показатели составили 93,2% (95% ДИ 81,8–97,7%), 90,5% и 92,3%. При прямом сравнении 61 скопления выявлено, что отрицательный результат КТ не позволяет надёжно исключить плотный некротический компонент (табл. 2).

Таблица 2.

Сравнительный анализ структуры 61 некротического скопления по данным парных КТ- и МРТ-исследований.

	1 тип	2 тип	3 тип	
			а	б
КТ				
МРТ				
Всего	**n = 29**	**n = 8**	**n = 13**	**n = 11**
ОНС	n = 3	n = 5	n = 5	n = 6
ОН или ПК	n = 26	n = 3	n = 8	n = 5

Структура некротического скопления имела клиническое и прогностическое значение. Порог 30% разделял группы с различающимися динамикой, тяжестью течения и потребностью в хирургическом лечении. При меньшей доле секвестров после максимального увеличения на второй неделе происходила отчётливая регрессия скоплений; при ≥30% их размеры к четвёртой неделе практически не уменьшались. Вероятным объяснением является необходимость предварительной ликвификации плотного некротического материала. Связь структуры с эффективностью ЧКД имеет непосредственное практическое значение: катетер обеспечивает преимущественно эвакуацию жидкого компонента и не предназначен для удаления крупных секвестров. При ≥30% секвестров после ЧКД сохранялся больший остаточный объём, а эскалация лечения требовалась значительно чаще. Полученные данные согласуются с Chandrasekhara и соавт., где ≥30% плотного компонента прогнозировало необходимость step-up-терапии, и Li и соавт., показавшими связь доли детрита с числом процедур и успехом лечения [3, 4]. Порог 30% не является самостоятельным показанием к вмешательству или его раннему выполнению. В исследовании POINTER ранняя инвазивная тактика при инфицированном некрозе не имела преимуществ перед отсроченной [5]. Критерий целесообразно применять после появления клинических показаний – для оценки вероятности успеха ЧКД и планирования возможной эскалации. Практическое использование критерия требует достоверной оценки структуры. КТ обладала высокой специфичностью, но существенно меньшей чувствительностью, поэтому внешне гомогенное жидкостное скопление на КТ не исключает значимый объём секвестров. КТ остаётся основой динамического наблюдения, а МРТ наиболее ценна в позднюю фазу для уточнения состава скопления перед вмешательством.

Заключение. Доля секвестров ≥30% в структуре некротического скопления ассоциирована с замедленной резорбцией, более тяжёлым течением, увеличением частоты хирургического и многоэтапного лечения, длительности госпитализации и летальности. Эффективность ЧКД зависит от структуры скопления: при ≥30% секвестров оно менее эффективно и значительно чаще требует перехода к последующим этапам лечения. КТ остаётся основным методом динамической оценки деструктивного панкреатита, однако МРТ имеет более высокую чувствительность в выявлении секвестров. Выполнение МРТ в позднюю фазу перед планируемым вмешательством позволяет точнее оценить структуру скопления, прогнозировать эффективность ЧКД и вероятность дальнейшей эскалации лечения.

Список литературы:

1. *Banks P.A., Bollen T.L., Dervenis C., et al. Classification of acute pancreatitis–2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus. Gut. 2013;62(1):102–111. doi:10.1136/gutjnl-2012-302779.*
2. *van Brunschot S., van Grinsven J., van Santvoort H.C., et al. Endoscopic or surgical step-up approach for infected necrotising pancreatitis: a multicentre randomised trial. Lancet. 2018;391(10115):51–58.*
3. *Chandrasekhara V., Elhanafi S., Storm A.C., et al. Predicting the Need for Step-Up Therapy After EUS-Guided Drainage of Pancreatic Fluid Collections With Lumen-Apposing Metal Stents. Clin Gastroenterol Hepatol. 2021;19(10):2192–2198.*
4. *Li Z., Siddiqui A., Singh G., et al. Pancreatic Walled-Off Necrosis: Cross-Sectional Imaging Depiction of Debris Predicts the Success of Endoscopic Drainage Using Lumen-Apposing Metal Stents. Dig Dis. 2024;42(4):380–388.*
5. *Boxhoorn L., van Dijk S.M., van Grinsven J., et al. Immediate versus Postponed Intervention for Infected Necrotizing Pancreatitis. N Engl J Med. 2021;385(15):1372–1381.*

* * *

ВЛИЯНИЕ ПОДТИПОВ ЭМФИЗЕМЫ НА ПЛОТНОСТНЫЕ И ОБЪЕМНЫЕ ПАРАМЕТРЫ ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ ПО ДАННЫМ КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА КОМПЬЮТЕРНЫХ ТОМОГРАММ У ЛИЦ С ФАКТОРАМИ РИСКА ХОБЛ

Устинова В.М.

Самарский государственный медицинский университет, Самара

Предпосылки к проведению исследования. ХОБЛ – распространенная патология респираторной системы. Основа диагностики ХОБЛ – определение бронхиальной обструкции при снижении индекса Генслера менее 0,7 при проведении спирометрии. Применение количественной обработки компьютерных томограмм на основе порогового анализа плотности и искусственного интеллекта позволяет найти новые грани диагностики и прогнозирования данной болезни.

Цель. Сравнение результатов анализа плотностных характеристик легочной ткани и измерения соотношений объёмов легочной ткани по данным автоматизированной обработки КТ-изображений и объемных показателей легочной функции у лиц с факторами риска ХОБЛ.

Материал и методы. Были проанализированы КТ легких 85 человек (50-75 лет с анамнезом курения более 30 пачко-лет). Участники были разделены на 2 группы по классификации эмфиземы по Lynch D.A 2015г. 1-я группа – 26 человек подтипы B-E эмфиземы (>0,5% объема легких с плотностью <-950HU). 2-я группа – 59 человека подтип А – минимальная эмфизема (≤0,5% объема легких <-950HU). Исследовались параметры легочной ткани: объём легких (ОЛ) в мл, средняя плотность легочной ткани (MLD) в единицах Хаунсфилда (HU), проценты объёма легочной ткани с плотностями <-950HU, -930HU и -900HU оценивались программой Автоплан (СамГМУ), объёмные соотношения – ОЛ в мл (Автоплан) к показателям – ФЖЕЛ и ОЕЛ (должные значения, нижняя граница нормы (НГН) и верхняя граница нормы (ВГН)) по нормативу GLI 2012 в процентах.

Результаты и обсуждение. При анализе средней плотности легочной ткани у пациентов с факторами риска ХОБЛ были выявлены достоверно более низкие значения у лиц из 1-й группы по сравнению со 2-й -840,04HU против -799,5HU $p<0,001$. При исследовании объемов и объемных соотношений определены достоверно более высокие значения в 1-й группе по сравнению со 2-й по процентам объема легких с плотностью менее -950 HU 2,05% против 0,15% $p<0,001$, менее -930 HU 8,34% против 0,69% $p<0,001$) и менее -900 HU 37,51% против 8,79% $p<0,001$), ОЛ/ФЖЕЛ должные значения 159,45% против 133,32% $p<0,001$), а также ОЛ/ОЕЛ должные значения 95,87% против 79,65% $p<0,001$ соответственно.

Выводы. Участники скрининга рака легких с факторами риска ХОБЛ с эмфиземой классов B-E имеют более выраженные признаки гиперинфляции по плотностным, объемным характеристикам и объемным соотношениям по сравнению с лицами с эмфиземой класса А.

Предпосылки к проведению исследования. Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – распространенная патология респираторной системы. Более 384 миллионов человек в мире страдает этой патологией. Основа диагностики ХОБЛ – определение бронхиальной обструкции при снижении индекса Генслера менее 0,7 при проведении спирометрии. Однако, в реальной клинической практике строгие диагностические критерии не всегда приводят к установлению диагноза, поэтому назрела необходимость в использовании альтернативных диагностических методик. Применение количественной обработки компьютерных томограмм (КТ) на основе порогового анализа плотности и средств искусственного интеллекта позволяет найти новые грани диагностики и прогнозирования течения данной патологии. В 2015 году группа ученых во главе с D.A.Lynch в рамках популяционного исследования COPDGene предложила классификацию определяемых с помощью КТ подтипов эмфиземы, которое одобрило Флейшнеровское сообщество [1]. Были выделены центрилобулярная эмфизема с классами A-E, панлобулярная и парасептальная. Подтипы центрилобулярной эмфиземы: A. Минимальная (менее 0,5% легочного объема); B. Умеренная (0,5-5% легочного объема); C. Средней степени (более 5% любой легочной зоны); D. Сливающаяся и E. Выраженная деструктивная эмфизема.

Цель. Сравнение результатов анализа плотностных характеристик легочной ткани и измерения соотношений объёмов легочной ткани по данным автоматизированной обработки КТ-изображений и объемных показателей легочной функции у лиц с факторами риска ХОБЛ.

Материал и методы. Были проанализированы компьютерные томограммы легких 85 человек в возрасте от 50 до 75 лет с анамнезом курения более 30 лет не менее 1 пачки в день, включенных в **когортное исследование использования низкодозной компьютерной томографии для выявления раннего рака легкого у бессимптомных пациентов в группе высокого риска** (Код протокола исследования: РЛКТ-01), проводившегося в 2012-2013 гг. под эгидой ФГБУ «Научно-исследовательский институт онкологии имени Н.Н. Петрова» Минздрава России на территории Самарской области. Исследования были проведены на 32-срезовом компьютерном томографе «Bright Speed» GE Medical System (США), с шириной среза 1,25 мм, с параметрами исследования 120-140 kVp и 30-100 mAs, с выполнением трехмерной реконструкции. Исследование функции внешнего дыхания участникам не проводилась. У всех участников исследования было визуально установлено наличие эмфиземы двумя независимыми экспертами с опытом работы в торакальной радиологии более 5 лет. Количественные параметры легочной ткани оценивались с помощью программы Автоплан, разработанной в НИИ Инновационного развития СамГМУ. Исследовались параметры: объём легких (ОЛ) в мл, средняя плотность легочной ткани (MLD) в единицах Хаунсфилда (HU), проценты объёма легочной ткани с плотностями менее -950HU, -930HU и -900HU и рассчитывались объёмные соотношения – ОЛ в мл по программе Автоплан к показателям – форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ) и общая емкость легких (ОЕЛ) (должные значения, нижняя граница нормы (НГН) и верхняя граница нормы (ВГН)) по нормативу GLI 2012, выраженные в процентах. Калькуляторы должных величин параметров спирометрии расположены на сетевых ресурсах по адресам: https://gli-calculator.ersnet.org/ или https://spirolan.ru/spirocalc/. Среди 85 больных были 51 мужчина и 34 женщины. Средний возраст составил 61,42 года. Участники исследования были разделены на 2 группы по классификации эмфиземы по Lynch D.A 2015г. (использована в исследовании COPDGene и одобрена

Флейшнеровским сообществом). Первая группа – 26 человек (22 мужчины и 4 женщины, средний возраст 62,7 лет) подтипы B-E центрилобулярной эмфиземы от умеренной до выраженной деструктивной (>0,5% объема легких с плотностью менее -950HU). Вторая группа – 59 человека (29 мужчин и 30 женщин, средний возраст 60,8 лет) подтип А – минимальная центрилобулярная эмфизема (≤0,5% объема легких). Статистическая обработка производилась с помощью пакета программ Statistica 6.0 и включала дескриптивную статистику (средние значения с 95% доверительным интервалом (ДИ)) и непараметрическое сравнение независимых групп U-критерием Манн-Уитни с достоверностью различий при значении $p<0,05$.

Результаты и обсуждение. При количественной обработке компьютерных томограмм у участников исследования в первой группе с более высоким подтипом эмфиземы (B-E) по сравнению со второй группой и минимальной эмфиземой (подтип А) определяется достоверно более низкая средняя плотность легочной ткани, а также достоверно более высокие проценты объема легочной ткани с плотностями менее -950HU, -930HU и -900HU (Таблица 1).

Таблица 1.

Сравнительная характеристика средних значений с 95% доверительным интервалом плотностных и объемных характеристик легочной ткани при различных подтипах эмфиземы.

Параметры	Группа 1 (n=26)	Группа 2 (n=59)	Достоверность различий по U-критерию Манн-Уитни Значение p
Средняя плотность легочной ткани, HU	-840,04 (-849,48 - -830,61)	-799,5 (-808,41 - -790,6)	<0,001
Объем легких с плотностью менее -950HU, %	2,05 (1-3,1)	0,15 (0,11-0,18)	<0,001
Объем легких с плотностью менее -930HU, %	8,34 (4,72-11,97)	0,69 (0,48-0,9)	<0,001
Объем легких с плотностью менее -900HU, %	37,51 (29,66-45,37)	8,79 (6,27-11,31)	<0,001

При исследовании объемных соотношений, где за основу приняты нормативы спирометрии (ФЖЕЛ) и бодиплетизмографии (ОЕЛ), а в числителе указан объем легких, рассчитанный с помощью компьютерной программы количественной обработки КТ, нами выявлены достоверно более высокие значения всех параметров в группе более

высоких подтипов эмфиземы (B-E) по сравнению с минимальной эмфиземой подтип А (Таблица 2).

Таблица 2.

Сравнительная характеристика средних значений с 95% доверительным интервалом объемных соотношений КТ объема и функциональных легочных объемов при различных подтипах эмфиземы

Параметры	Группа 1 (n=26)	Группа 2 (n=59)	Достоверность различий по U-критерию Манн-Уитни Значение p
ОЛ/ФЖЕЛ Должное значение, %	159,45 (148,23-170,68)	133,32 (125,47-141,18)	<0,001
ОЛ/ ФЖЕЛ НГН, %	213,07 (197,75-228,39)	180,19 (169,38-191,01)	<0,001
ОЛ/ ФЖЕЛ ВГН, %	126,99 (118,11-135,88)	105,38 (99,21-111,56)	<0,001
ОЛ/ОЕЛ Должное значение, %	95,87 (89,11-102,64)	79,65 (74,98-84,31)	<0,001
ОЛ/ ОЕЛ НГН, %	121,15 (112,5-129,81)	99,13 (93,34-104,91)	<0,001
ОЛ/ ОЕЛ ВГН, %	80,08 (74,36-85,8)	65,88 (61,99-69,78)	<0,001

Обращает на себя внимание тот факт, что объемные соотношения должных показателей и верхней границы нормы по общей емкости легких, выявляемой с помощью бодиплетизмографии в обеих группах не превышали 100%, что может быть связано с недооценкой КТ легочного объема из-за недостаточно полного вдоха во время исследования.

Патофизиологически ХОБЛ характеризуется с одной стороны обструкцией дыхательных путей, которая выявляется с помощью спирометрии и выражается в снижении индекса Генслера менее 0,7, а с другой стороны «воздушными ловушками» и гиперинфляцией, связанными с атрофией гладкой мускулатуры бронхов и хроническим воспалением с разрушением эластического каркаса легких, что приводит к эмфиземе и выявляется при болиплетизмографии. Применение количественного анализа компьютерной томографии при эмфиземе и сравнение ее характеристик с функциональными тестами помогает с высокой вероятностью диагностировать стадию заболевания и прогнозировать прогрессирование болезни и смертность [2]. В исследовании принимали участие лица с длительным анамнезом курения без установленного диагноза ХОБЛ. Однако, визуальная и количественная оценка эмфиземы позволяет заподозрить наличие

ХОБЛ. В группе минимального подтипа А эмфиземы (средний объем эмфиземы с плотностью менее -950HU всего 0,15%) установлено 58-кратное нарастание объема менее плотной ткани до 8,8% при увеличении порога эмфиземы на 50HU, что расценивается нами как начальные, маловыраженные признаки гиперинфляции. В группе более выраженной эмфиземы (подтипы B-E) увеличение порога эмфиземы на 50HU приводит к 18-кратному увеличению объема со стартовых 2,05%. Более выраженные объемные соотношения ОЛ/ОЕЛ в этой группе также связаны с развитием гиперинфляции и появлением «воздушных ловушек», несмотря на недооценку объема легких по КТ, выявленную в мета-анализе H.J.B. Olsen и J.Mortensen [3]. Плотностные и объемные КТ характеристики нуждаются в сопоставлении с данными функциональных легочных тестов для верификации диагноза ХОБЛ.

Выводы. Участники скрининга рака легких с факторами риска ХОБЛ с эмфиземой подтипов B-E по классификации D.A. Lynch имеют более выраженные признаки гиперинфляции по плотностным, объемным характеристикам и объемным соотношениям, но меньшую скорость нарастания объема эмфиземы при увеличении порога обработки по сравнению с лицами с эмфиземой подтипа А.

Список литературы:

1. *Lynch D.A., Austin J.H., Hogg J.C., et al. CT-definable subtypes of chronic obstructive pulmonary disease: a statement of the Fleischner Society. Radiology. 2015 Oct;277(1):192-205. doi: 10.1148/radiol.2015141579. Epub 2015 May 11. PMID: 25961632; PMCID: PMC4613878.*
2. *Hasenstab K.A., Yuan N., Retson T., et al. COPDGene investigators. Automated CT staging of Chronic Obstructive Pulmonary Disease severity for predicting disease progression and mortality with a deep learning convolutional neural network. Radiol Cardiothorac Imaging. 2021 Apr 8;3(2):e200477. doi: 10.1148/ryct.2021200477. PMID: 33969307; PMCID: PMC8098086.*
3. *Olsen H.J.B., Mortensen J. Comparison of lung volumes measured with computed tomography and whole-body plethysmography - a systematic review. Eur Clin Respir J. 2024 Jul 29;11(1):2381898. doi: 10.1080/20018525.2024.2381898. PMID: 39081799; PMCID: PMC11288198.*

* * *

ДИНАМИЧЕСКАЯ ОФЭКТ МИОКАРДА В ОЦЕНКЕ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНЫХ НАРУШЕНИЙ У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА И НЕОБСТРУКТИВНЫМ ПОРАЖЕНИЕМ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ

Цыгикало А.А.

Научно-исследовательский институт кардиологии,
Томский национальный исследовательский медицинский центр
Российской академии наук,
Томск

Аннотация. Предпосылки для исследования. У пациентов с сахарным диабетом 2 типа (СД 2) ишемия миокарда часто развивается при необструктивном поражении коронарных артерий (НПКА), что указывает на ведущую роль коронарной микрососудистой дисфункции (КМД). Количественная оценка резерва миокардиального кровотока (РМК) с помощью динамической ОФЭКТ с полупроводниковыми детекторами (CZT) представляет собой перспективный, но малоизученный подход в этой когорте.

Цель. Определить особенности функционального состояния микроциркуляторного русла у пациентов с СД 2 типа на фоне НПКА по данным динамической CZT-ОФЭКТ миокарда.

Материал и методы. В исследование включили 75 пациентов с НПКА: 36 с СД 2 и 39 без диабета. Всем выполнили динамическую ОФЭКТ миокарда с ^{99m}Tc-МИБИ и перфузионную сцинтиграфию миокарда. Оценивали полуколичественные показатели перфузии и абсолютные значения миокардиального кровотока (МК) в покое и при нагрузке, а также РМК.

Результаты и обсудение. У пациентов с СД2 по сравнению с группой без диабета выявлены более высокие значения суммарных дефектов перфузии ($p<0,01$) и достоверно более высокий МК в покое ($p=0,004$), тогда как МК при нагрузке значимо не различался. РМК и абсолютный прирост кровотока оказались значимо ниже в группе СД2 ($p<0,01$ и $p=0,03$ соответственно). Множественный регрессионный анализ подтвердил наличие СД2 как независимый предиктор повышенного МК в покое.

Вывод. Впервые с помощью динамической CZT-ОФЭКТ установлено, что у пациентов с СД2 и НПКА ключевым гемодинамическим нарушением является повышение МК в покое, которое обуславливает снижение РМК, что может свидетельствовать о ранней КМД. Количественная оценка компонентов МК с помощью динамической CZT-ОФЭКТ расширяет диагностические возможности и может служить основой для стратификации кардиоваскулярного риска в этой группе.

Финансирование: исследование выполнено в рамках гос. задания ФНИ №122020300044-8.

Предпосылки для исследования. Сахарный диабет 2 типа (СД2) — одна из ведущих неинфекционных эпидемий: в РФ зарегистрировано 5,8 млн. случаев, 93% из которых СД2, а к 2045 г. ожидается рост до 783 млн. [1]. Ишемическая болезнь сердца — главная причина смерти при СД 2 [1], однако даже при необструктивном поражении коронарных артерий (НПКА) сохраняется высокий сердечно-сосудистый риск. Ключевым механизмом ишемии при НПКА на фоне СД 2 выступает коронарная микрососудистая дисфунк-

ция (КМД), а её интегральным неинвазивным показателем — резерв миокардиального кровотока (РМК). Динамическая ОФЭКТ с CZT-детекторами позволяет количественно оценивать РМК с точностью, сопоставимой с ПЭТ, однако данные у пациентов с СД2 и НПКА практически отсутствуют.

Цель. Определить особенности функционального состояния микроциркуляторного русла у пациентов с СД 2 типа на фоне НПКА по данным динамической CZT-ОФЭКТ миокарда.

Материал и методы. В исследование были включены 75 пациентов с НПКА: 1) 36 - с сахарным диабетом 2 типа, 2) 39 - без СД 2 (рис. 1). Критерии включения: необструктивное поражение коронарных артерий (НПКА); возраст от 30 до 60; уровень гликированного гемоглобина (HbA1c) <9% (для 1 группы). Критерии исключения: обструктивное поражение КА (>50%); острые состояния пациентов (инфаркт миокарда (ИМ), инсульт (ОНМК)); ИМ, ОНМК и реваскуляризация в анамнезе; выраженная патология клапанного аппарата; ожирение 3 степени; наличие терминальной диабетической ретинопатии.

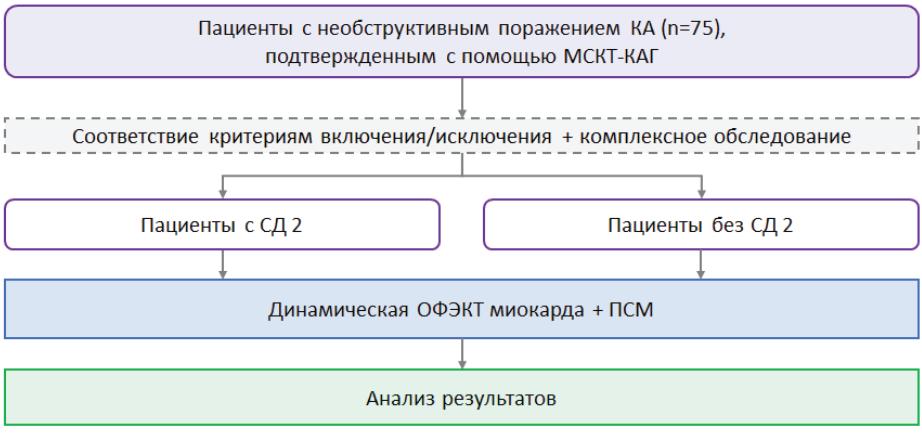


Рис.1.
Дизайн исследования

Примечание: КА – коронарные артерии; МСКТ-КАГ – мультиспиральная компьютерная томографическая коронароангиография; ОФЭКТ – однофотонная эмиссионная компьютерная томография; ПСМ – перфузионная сцинтиграфия миокарда; СД 2 – сахарный диабет 2-го типа

В соответствии с дизайном всем пациентам было выполнено комплексное клиническое и лабораторно-инструментальное обследование, которое включало в себя сбор жалоб и анамнеза, динамическую ОФЭКТ сердца с перфузионной сцинтиграфией миокарда (ПСМ) и мультиспиральную компьютерную томографическую коронарную ангиографию (МСКТ-КАГ) для верификации необструктивного поражения КА. Исследование проведено в соответствии с положением Хельсинкской декларации и одобрено локальным комитетом по биомедицинской этике учреждения, все пациенты подписали информированное добровольное согласие на участие в исследовании.

Динамическая ОФЭКТ сердца и ПСМ

Исследование динамической ОФЭКТ проводится по двухдневному протоколу «покой-нагрузка» со стандартным четырехминутным введением АТФ. В качестве РФП был использован 99mTc-метокси-изобутил-изонитрил (99mTc-МИБИ, «Технетрил»); в качестве стресс-агента использовался аденозинтрифосфат (АТФ) в дозировке 160 мкг/кг/мин. Стандартная ПСМ входит в протокол дОФЭКТ. Более подробно протокол проведения исследования был описан ранее [2] и представлен на рисунке 2. Общая эффективная лучевая нагрузка исследования составила от 4,4 до 7,5 мЗв. Все радионуклидные исследования были выполнена на гибридной ОФЭКТ/КТ системе с CZT-детекторами GE Discovery NM/CT 570c (GE Healthcare, Milwaukee, WI, USA). Использовались стандартные методы статистической обработки (U-критерий Манна–Уитни, χ^2 Пирсона или точный критерий Фишера, корреляция Спирмена, линейный регрессионный анализ; значимость при $p \leq 0,05$.) и выполнялись в программах STATISTICA 10 (StatSoft Inc, США), MedCalc version 17.4 (MedCalc Software, Бельгия) и Jamovi 2.2.5.

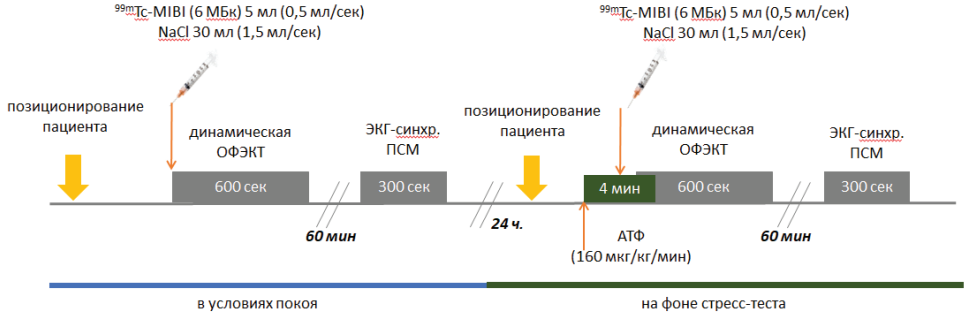


Рис.2.
Протокол динамической ОФЭКТ миокарда

Примечание:^{99}mTc-MIBI – технецием 99-й метастабильным меченный метоксиизобутилизонитрил (Технетрил); NaCl – физиологический раствор; АТФ – аденозинтрифосфат; ОФЭКТ – однофотонная эмиссионная компьютерная томография; ПСМ – перфузионная сцинтиграфия миокарда; ЭКГ-синхр. – синхронизированная с электрокардиограммой

Результаты и обсуждение. Клиническая характеристика пациентов

Группы были сопоставимы по полу, возрасту, частоте гипертонической болезни, дислипидемии и периферического атеросклероза. У пациентов с СД2 реже встречалась типичная стенокардия (p=0,003) и курение (p=0,001), но чаще ожирение (p<0,01). Длительность СД 2 составила 7,5 [2;10] лет.

Таблица 1.

Клиническая характеристика пациентов

	Все пациенты (75)	СД+ (36)	СД– (39)	p-value
Пол				
Ж, n/%	37 / 49,3	18 / 50	19 / 48,7	0,91
М, n/%	38 / 50,7	18 / 50	20 / 51,3	
Возраст, лет	56 (48; 62)	55,5 (48; 62,5)	56 (50; 62)	0,79
Типичная стенокардия, n/%	10 / 13,3	3 / 8,3	7 / 17,9	0,003
Стаж СД, лет		7,5 (2; 10)		
Гипертоническая болезнь, n/%				0,55
0	10 / 13,3	8 / 22,2	2 / 5,13	
1	13 / 17,33	1 / 2,78	12 / 30,77	
2	12 / 16	6 / 16,67	6 / 15,38	
3	40 / 53,33	21 / 58,33	19 / 48,7	
Дислипидемия (в анамнезе), n/%	40 / 53,33	24 / 66,67	16 / 41,03	0,98
Периферический атеросклероз	35 / 46,67	15 / 41,67	20 / 51,3	0,17
ИМТ, кг/м2	29,4 (27,1; 30,9)	30 (28,7; 31,2)	26,9 (23,4; 29,8)	<0,001
Ожирение				<0,01
0	41 / 54,67	13 / 36,1	28 / 71,8	
1	22 / 29,33	14 / 38,89	8 / 20,5	
2	12 / 16	9 / 25	3 / 7,69	
Курение	16 / 21,33	3 / 8,3	13 / 33,3	0,001
Стенозы по бассейнам артерий				
ПНА	30 (0; 40)	30 (17,5; 40)	15 (0; 40)	0,16
ПКА	0 (0; 30)	27,5 (0; 30)	0 (0; 0)	0,002
ОА	0 (0; 20)	0 (0; 25)	0 (0; 15)	0,77

Примечание: ИМТ – индекс массы тела; ОА – огибающая артерия; ПКА – правая коронарная артерия; ПНА – передняя нисходящая артерия; СД – сахарный диабет.

Данные динамической ОФЭКТ и ПСМ

По данным ОФЭКТ, у пациентов с СД2 были значимо выше суммарные стресс-индуцированные (SSS), стабильные (SRS) и преходящие (SDS) дефекты перфузии ($p<0,01$ для всех). Миокардиальный кровоток (МК) в покое был достоверно выше при СД2 ($p=0,004$), тогда как при нагрузке различий не было ($p=0,41$), хотя наблюдалась тенденция к его снижению. РМК оказался значимо ниже в группе диабета ($p<0,01$), как и абсолютный прирост кровотока ΔРМК ($p=0,03$) (табл. 2).

Таблица 2.

Данные ПСМ и динамической ОФЭКТ сердца у пациентов

Показатели	Все пациенты (75)	СД+ (36)	СД– (39)	P, M-U
Полуколичественные показатели перфузии миокарда				
SSS, баллы	2 (0; 4)	3,5 (0; 4,5)	0 (0; 2)	<0,01
SRS, баллы	0 (0; 1)	0,5 (0; 1,5)	0 (0; 0)	<0,01
SDS, баллы	2 (0; 4)	2 (0; 4)	0 (0; 2)	<0,01
Количественные показатели перфузии миокарда				
МК нагрузка, мл/мин/г	1,44 (1,03; 1,88)	1,47 (1; 1,95)	1,53 (1,22; 1,83)	0,41
МК покой, мл/мин/г	0,65 (0,51; 0,81)	0,7 (0,55; 0,88)	0,62 (0,5; 0,73)	0,004
РМК	2,23 (1,5; 2,51)	2,18 (1,46; 2,44)	2,43 (1,91; 3,07)	<0,01
ΔРМК, мл/мин/г	0,75 (0,48; 1,19)	0,79 (0,43; 1,14)	0,82 (0,6; 1,23)	0,03

Примечание:SDS – summed difference score; SRS – summed rest score; SSS – summed stress score; МК – миокардиальный кровоток; ОФЭКТ – однофотонная эмиссионная компьютерная томография; ПСМ – перфузионная сцинтиграфия миокарда; РМК – резерв миокардиального кровотока.

Корреляционный анализ (Рис.3) выявил умеренные положительные связи ИМТ с SDS и SSS, слабые отрицательные связи ИМТ с МК в покое и нагрузке (p<0,05). Степень стеноза правой коронарной артерии положительно коррелировала с SDS (ρ=0,329, p<0,05).

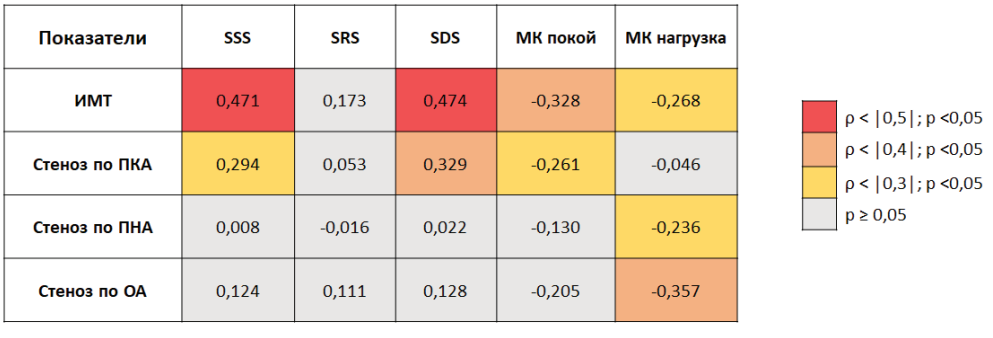


Рис.3.
График Heatmap, отражающий взаимосвязь СД 2 с данными динамической ОФЭКТ миокарда и ИМТ у пациентов с СД 2 и НПКА

Примечание: p-value – уровень статистической значимости; ρ – коэффициент корреляции Спирмена; SDS – summed difference score; SRS – summed rest score; SSS – summed stress score; ИМТ – индекс массы тела; МК покой – миокардиальный кровоток в покое; МК нагрузка – миокардиальный кровоток при нагрузке; ОА – огибающая артерия; ОФЭКТ – однофотонная эмиссионная компьютерная томография; ПКА – правая коронарная артерия; ПНА – передняя нисходящая артерия; РМК – резерв миокардиального кровотока; СД 2 – сахарный диабет 2-го типа

Множественная линейная регрессия (табл. 3) показала: модель с включением СД2, курения, дислипидемии и ИМТ не достигла значимости (p=0,205); модель, включавшая только наличие СД2 и ИМТ, была близка к значимости (p=0,094), при этом наличие СД2 являлось независимым предиктором повышенного МК в покое (β=0,223; p=0,031). Простая линейная регрессия подтвердила значимую ассоциацию СД2 с МК покоя (β=0,167; p=0,033).

Таблица 3.

Множественная линейная регрессия (зависимая переменная – МК покой)

Предиктор	**Коэф-т β**	**Стандарт. ошибка**	**Стандартиз. β**	**t**	**p**	**95% ДИ**
Модель 1 (R^2 = 0,144; F(4,37) = 1,56; p = 0,205)						
Константа	0,807	0,560		1,44	0,158	
Наличие СД 2	0,221	0,176	0,518	1,26	0,217	[-0,317; 1,354]
ИМТ	-0,010	0,022	-0,081	-0,46	0,652	[-0,443; 0,281]
Курение	-0,177	0,193	-0,417	-0,92	0,365	[-1,336; 0,503]
Дислипидемия	0,205	0,139	0,482	1,48	0,148	[-0,180; 1,145]
Модель 2 (R^2 = 0,078; F(2,58) = 2,46; p = 0,094)						
Константа	1,084	0,377		2,87	0,006	
Наличие СД 2	0,223	0,101	0,622	2,2	**0,031**	[0,057; 1,187]
ИМТ	-0,017	0,014	-0,176	-1,24	0,219	[-0,460; 0,108]
Модель 3 (R^2 = 0,061; F(1,73) = 4,73; p = **0,033**)						
Константа	0,643	0,053		12,11	<0,001	
Наличие СД 2	0,167	0,077	0,490	2,17	**0,033**	[0,041; 0,940]

В настоящем исследовании впервые проведён сравнительный количественный анализ МК и РМК методом динамической ОФЭКТ с CZT-детекторами у пациентов с НПКА с СД2 и без него. Ключевая находка: при СД2, несмотря на отсутствие гемодинамически значимых стенозов, наблюдаются значимое снижение РМК и ΔРМК. МК в покое был достоверно выше, тогда как при нагрузке различий не было (но присутствовала тенденция к снижению). Следовательно, снижение резерва обусловлено патологическим повышением базального кровотока, а не снижением кровотока в нагрузке.

Повышение МК в покое указывает на нарушение коронарной ауторегуляции — метаболически опосредованную вазодилатацию покоя. В основе лежат гипергликемия, накопление конечных продуктов гликирования, инсулинорезистентность со снижением GLUT1/4, активация липолиза с повышением СЖК, липотоксичность (церамид, диацилглицерол), окислительный стресс и воспаление. Эти процессы ведут к дисфункции микроциркуляторного русла, парадоксальному снижению базального тонуса артериол и повышению МК покоя. Отсутствие значимых различий нагрузочного МК может объясняться относительно небольшой длительностью СД2 (медиана 7,5 лет) или хорошим гликемическим контролем, сохраняющим резерв микроциркуляции. Повышенный кровоток покоя становится ключевым драйвером снижения РМК.

Аналогичный гемодинамический паттерн (повышенный покой, сниженный резерв) описан при количественной перфузионной МРТ сердца [3]. Наши результаты впервые подтверждают этот феномен с помощью динамической CZT-ОФЭКТ, расширяя доказательную базу для более доступного метода.

Хотя средний РМК в обеих группах оставался в референсном диапазоне (>2,0), интегральный показатель может маскировать микрососудистую дисфункцию. Оценка только РМК без учёта его компонентов способна недооценить КМД; именно сочетание МК покоя, МК нагрузки и РМК выявляет ранний паттерн.

Дополнительно у пациентов с СД2 выявлены более высокие суммарные стресс-индуцированные и стабильные дефекты перфузии, что указывает на сочетанное влияние микрососудистой дисфункции и необструктивного эпикардиального атеросклероза. Типичная стенокардия встречалась реже (p=0,003), что объясняется автономной нейропатией. Связь ИМТ с дефектами перфузии и МК согласуется с концепцией липотоксичности. Курение реже встречалось при СД2 (8,3% против 33,3%, p=0,001).

Множественная регрессия показала, что наличие СД2 — независимый предиктор повышенного МК покоя после поправки на ИМТ (β=0,223; p=0,031), однако в модели с курением и дислипидемией значимость терялась. Простая регрессия подтвердила ассоциацию СД2 с МК покоя (β=0,167; p=0,033), но R^2=0,061 указывает на вклад других неучтённых факторов.

Снижение РМК при СД2 имеет прогностическое значение. По данным ПЭТ, РМК предсказывает смертность и сердечно-сосудистые события у пациентов с диабетом и без [4], а сниженные нагрузочный МК и РМК — предикторы кардиальных событий у диабетиков с нормальной перфузией [5]. Наши результаты позволяют отнести пациентов с СД2 и НПКА к группе повышенного риска и обосновывают необходимость количественной оценки перфузии вместо только полуколичественной.

Результаты исследования имеют несколько практических применений.У пациентов с СД2 и симптомами без обструктивных стенозов причиной жалоб может быть КМД, выявляемая с помощью динамической ОФЭКТ. Снижение РМК, даже в пределах нормы, может служить основанием для интенсификации контроля гликемии, снижения массы тела и применения препаратов с доказанным кардиоваскулярным эффектом (ингибиторы SGLT2, агонисты GLP-1). Комплексная количественная оценка МК и РМК выявляет клинически значимые нарушения, недооценённые при рутинной интерпретации.

Нельзя не отметить ряд ограничений. Настоящее исследование является одноцентровым с относительно небольшой выборкой (n = 75), что ограничивает статистическую мощность. Не анализировались детальные показатели гликемического контроля и сахароснижающая терапия, способные влиять на микроциркуляцию. Наконец, работа носила поисковый одномоментный характер, и для валидации выявленных ассоциаций необходимы проспективные исследования.

Вывод. У пациентов с сахарным диабетом 2 типа и верифицированным необструктивным поражением коронарных артерий впервые с помощью динамической ОФЭКТ с CZT-детекторами установлено, что ключевым патофизиологическим изменением является повышение миокардиального кровотока в покое, за счёт которого происходит снижение резерва миокардиального кровотока. Этот гемодинамический паттерн ассоциирован с наличием диабета и ожирения, а также с более выраженными полуколичественными дефектами перфузии, что в совокупности указывает на раннюю коронарную

микрососудистую дисфункцию. Количественная оценка компонентов миокардиального кровотока методом динамической ОФЭКТ расширяет диагностические возможности при обследовании данной категории больных и закладывает основу для будущих исследований по стратификации кардиоваскулярного риска.

Исследование выполнено в рамках гос. задания ФНИ №122020300044-8.

Список литературы:

1. *Wolsk E., Jürgens M., Schou M., Ersbøll M., Hasbak P., Kjaer A. et al. Coronary microvascular dysfunction and left heart filling pressures in patients with type 2 diabetes. ESC Heart Fail. 2024;11(6):3551–3558. DOI: 10.1002/ehf2.14929.*
2. *Mochula A.V., Nalesnik E.O., Vorobyeva D.A., Tsygikalo A.A., Dil S.V., Mochula O.V. et al. Microvascular dysfunction assessed by dynamic SPECT has a prognostic value in patients with a first acute myocardial infarction in a 3-year follow-up study. Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging. 2026;53(4):2674–2685. DOI: 10.1007/s00259-025-07615-2.*
3. *Sørensen M.H., Bojer A.S., Pontoppidan J.R.N., Broadbent D.A., Plein S., Madsen P.L. et al. Reduced myocardial perfusion reserve in type 2 diabetes is caused by increased perfusion at rest and decreased maximal perfusion during stress. Diabetes Care. 2020;43(6):1285–1292. DOI: 10.2337/dc19-2172.*
4. *Aljizeeri A., Ahmed A.I., Suliman I., Alfaris M.A., Elneama A., Al-Mallah M.H. Incremental prognostic value of positron emission tomography-derived myocardial flow reserve in patients with and without diabetes mellitus. Eur. Heart J. Cardiovasc. Imaging. 2023;24(5):563–571. DOI: 10.1093/ehjci/jead023.*
5. *Assante R., Mainolfi C.G., Zampella E., Gaudieri V., Nappi C., Mannarino T. et al. Relation between myocardial blood flow and cardiac events in diabetic patients with suspected coronary artery disease and normal myocardial perfusion imaging. J. Nucl. Cardiol. 2021;28(4):1222–1233. DOI: 10.1007/s12350-021-02533-w.*

* * *

ТРЕПАН- БИОПСИЯ ПОД УЗ- НАВИГАЦИЕЙ В ДИАГНОСТИКЕ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Якушева А.С.
Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба, Обнинск

Предпосылки для исследования. Рак щитовидной железы является одним из наиболее распространенных злокачественных новообразований эндокринной системы, при этом в последние годы отмечается устойчивый рост заболеваемости. «Золотым стандартом» первичной морфологической диагностики остается тонкоигольная аспирационная биопсия под ультразвуковой (УЗ) навигацией, однако при агрессивных формах рака и метастатическом поражении щитовидной железы полученного материала нередко недостаточно для установления диагноза и проведения иммуногистохимического исследования (ИГХ). В этих случаях трепан-биопсия под УЗ- навигацией позволяет получить тканевой материал для гистологического и ИГХ. Вместе с тем в действующих клинических рекомендациях Российской Федерации метод рекомендован только при подозрении на анапластический рак щитовидной железы, тогда как его применение при других злокачественных новообразованиях не регламентировано.

Цель. Повышение эффективности диагностики злокачественных новообразований щитовидной железы посредством оптимизации метода трепан-биопсии под УЗ- навигацией.

Материалы и методы. В исследование включены 68 пациентов с узловыми образованиями щитовидной железы и неокончательным морфологическим диагнозом по результатам тонкоигольной аспирационной биопсии (ТИАБ) под УЗ-навигацией. Всем пациентам выполнены ТИАБ и трепан- биопсия (ТБ) под УЗ-навигацией врачом УЗД методом «свободной руки». Образцы, полученные с помощью ТИАБ, направляли на цитологическое исследование, а материал ТБ- на гистологическое. ТБ выполнялась под местной анестезией автоматическим пистолетом с иглой от 16 до 18G.

Результаты и обсуждение. Во всех 68 случаях ТИАБ с цитологическим исследованием не дала окончательного морфологического диагноза. Всем пациентам, включенным в исследование выполнена ТБ под УЗ-навигацией. В результате гистологического и ИГХ полученного материала выявлено: анапластический рак- 21, медуллярный- 3, фолликулярная опухоль- 3, плоскоклеточный- 5, лимфома- 14, метастазы: рака лёгкого- 4, почки- 5, молочной железы- 4, аденокарциномы ЖКТ- 4; мукоэпидермоидная карцинома- 1, рак из А-клеток- 2, недифференцированная саркома- 1, нейроэндокринная опухоль неустановленной органопринадлежности- 1. В ходе исследования ТБ под УЗ-навигацией продемонстрировала безопасность данного метода, поскольку критические постпункционные осложнения не наблюдались.

Вывод. Полученные данные свидетельствуют о высокой эффективности и безопасности ТБ под УЗ-навигацией в диагностике злокачественных новообразований щитовидной железы, особенно при вторичных поражениях, а также её преимуществе в ряде клинических ситуаций, требующих объёмного гистологического материала.

Предпосылки для исследования. Рак щитовидной железы является одним из наиболее распространенных злокачественных новообразований эндокринной системы, при этом в последние годы отмечается устойчивый рост заболеваемости. Несмотря на ведущую роль ультразвукового исследования в выявлении подозрительных узлов, выбор лечебной тактики возможен только после морфологической верификации опухоли. В настоящее время «золотым стандартом» первичной диагностики остается ТИАБ под ультразвуковым контролем. Однако при агрессивных формах рака и метастатическом поражении щитовидной железы цитологического материала нередко недостаточно для установления окончательного диагноза и проведения дополнительных морфологических исследований. В этих случаях перспективным методом является ТБ под УЗ- навигацией, позволяющая получить тканевой материал, пригодный для гистологического и ИГХ. Несмотря на потенциальные преимущества, применение ТБ щитовидной железы в действующих клинических рекомендациях Российской Федерации ограничено: метод рекомендован только при подозрении на анапластический рак щитовидной железы и не регламентирован для других злокачественных новообразований.

Цель. Повышение эффективности диагностики злокачественных новообразований щитовидной железы посредством оптимизации метода ТБ под УЗ- навигацией.

Материалы и методы. В исследование включены 68 пациентов с узловыми образованиями щитовидной железы, у которых результаты ТИАБ под УЗ- навигацией не позволили установить окончательный морфологический диагноз, что потребовало выполнения ТБ для получения материала, пригодного для гистологического и ИГХ. Все вмешательства выполнял один врач ультразвуковой диагностики методом «свободной руки». Перед биопсией оценивали ультразвуковые характеристики образования и его взаимоотношение с окружающими анатомическими структурами для выбора безопасной траектории проведения иглы. ТИАБ выполняли иглой 23-25G. Материал получали путем многократных тракций с веерообразным изменением направления иглы в пределах различных участков узла и направляли на цитологическое исследование. ТБ выполняли под местной инфильтрационной анестезией иглами 16G или 18G. Длину рабочего хода (15 или 22 мм) подбирали индивидуально в зависимости от размеров и локализации образования. Выполняли от одного до трех заборов ткани с последующим гистологическим и ИГХ.

Результаты и обсуждение. Во всех 68 случаях результаты цитологического исследования, выполненного после ТИАБ под УЗ- навигацией, не позволили установить окончательный диагноз, что послужило основанием для выполнения трепан-биопсии. По результатам гистологического исследования материал, полученный при ТБ, во всех случаях позволил установить гистологический вариант опухоли. Структура выявленных новообразований представлена в таблице 1.

Таблица 1.

Морфологические диагнозы, установленные по результатам ТБ

Морфологический диагноз	n	%
Анапластический рак	21	30,9
Лимфома	14	20,6
Плоскоклеточный рак	5	7,4
Метастаз рака почки	5	7,4
Метастаз рака легкого	4	5,9
Метастаз рака молочной железы	4	5,9
Метастаз аденокарциномы ЖКТ	4	5,9
Медуллярный рак	3	4,4
Фолликулярная опухоль	3	4,4
Опухоль из А-клеток	2	2,9
Мукоэпидермоидная карцинома	1	1,5
Недифференцированная саркома	1	1,5
Нейроэндокринная опухоль неустановленной органопринадлежности	1	1,5
Всего	68	100

Во всех наблюдениях объема полученного материала было достаточно для выполнения гистологического исследования. ИГХ выполняли по показаниям для уточнения морфологического варианта опухоли и определения первичного источника метастатического поражения. В 5 (7,4%) случаях вследствие малого объема биоптата и полного расходования ткани в процессе гистологической обработки материала оказалось недостаточно для выполнения ТГХ, что потребовало повторного выполнения ТБ. После повторной процедуры во всех случаях получен достаточный объем ткани для проведения ИГХ и окончательной морфологической верификации опухолевого процесса (таблица 2).

Таблица 2.

Повторные ТБ

Показатель	n	%
Первично выполненная ТБ	68	100
Повторная ТБ	5	7,4
Причина повторной ТБ	Недостаточный объем ткани для выполнения ИГХ после гистологической обработки	-
После повторной ТБ материал был достаточен для выполнения ИГХ	5	100

ТБ под УЗ- навигацией продемонстрировала высокий профиль безопасности. Критически значимых осложнений, включая кровотечение, потребовавшее хирургического вмешательства, гематому шеи с распространением в переднее средостение, повреждение трахеи с развитием подкожной эмфиземы, повреждение возвратного гортанного нерва и инфекционные осложнения, не зарегистрировано. Единственным осложнением явилось образование небольшого подкожного кровоподтека в области пункции у одного пациента, получавшего Эликвис в лечебной дозировке. Осложнение не потребовало дополнительного лечения и самостоятельно регрессировало в процессе динамического наблюдения (таблица 3).

Таблица 3.

Постпункционные осложнения после ТБ под УЗ- навигацией

Осложнение	**n**	**%**
Значимые осложнения		
Кровотечение, потребовавшее хирургического вмешательства	0	0
Гематома шеи с компрессией дыхательных путей	0	0
Кровотечение с распространением в переднее средостение	0	0
Повреждение трахеи	0	0
Подкожная эмфизема	0	0
Повреждение возвратного гортанного нерва	0	0
Инфекционные осложнения	0	0
Госпитализация, связанная с осложнением	0	0
Незначительные осложнения		
Подкожный кровоподтек в области пункции	1	1,5

ТБ под УЗ- навигацией продемонстрировала высокую диагностическую эффективность у пациентов с неинформативными результатами тонкоигольной аспирационной биопсии, обеспечив получение тканевого материала, достаточного для гистологического, а в большинстве случаев- и ИГХ. Метод оказался особенно информативным при диагностике анапластического рака, лимфом и метастатического поражения щитовидной железы. Несмотря на необходимость повторной ТБ в 5 (7,4%) случаях для выполнения ИГХ, критически значимых осложнений не зарегистрировано, что подтверждает высокую диагностическую ценность и безопасность метода при соблюдении техники выполнения вмешательства.

Выводы.

ТБ под УЗ- навигацией является эффективным методом морфологической верификации злокачественных новообразований щитовидной железы в случаях, когда результаты тонкоигольной аспирационной биопсии не позволяют установить окончательный диагноз или полученного материала недостаточно для проведения ИГХ.

Получение тканевого биоптата обеспечивает возможность выполнения гистологического и ИГХ, что особенно важно при диагностике анапластического рака, лимфом, метастатического поражения щитовидной железы и других редких злокачественных новообразований.

Повторное выполнение ТБ потребовалось в 5 (7,4%) случаях в связи с недостаточным объемом ткани для проведения ИГХ после гистологической обработки материала. После повторной биопсии во всех случаях был получен материал, достаточный для окончательной морфологической верификации опухолевого процесса.

ТБ под УЗ- навигацией продемонстрировала высокий профиль безопасности. В исследуемой группе не зарегистрировано ни одного критически значимого постпункционного осложнения, а единственным нежелательным явлением явилось образование небольшого подкожного кровоподтека у одного пациента, получавшего антикоагулянтную терапию.

Источник финансирования нет

Автор выражает искреннюю признательность руководителю исследования, заведующему отделением ультразвуковой диагностики, к.м.н. П.Д. Беспалову, за научное руководство и консультативную помощь. Автор благодарит, врача УЗД, онколога, д.м.н. А.А. Ильина, заведующего отделением опухолей головы и шеи, к.м.н. В.В. Полькина, и заведующего отделом опухолей головы и шеи, д.м.н. М.А. Кропотова, заведующую цитологической лабораторией Е.Ю. Фурминскую, врача КДЛ М.И. Рыженкову, заведующего отделением онкопатологии В.Н. Гриневич и коллектив отделения за научные консультации и помощь в выполнении исследования.

Список литературы:

1. *Lukyanov, S.A.; Titov, S.E.; Kozorezova, E.S.; Demenkov, P.S.; Veryaskina, Y.A.; Korotovskii, D.V.; Ilyina, T.E.; Vorobyev, S.L.; Zhivotov, V.A.; Bondarev, N.S.; et al. Prediction of the Aggressive Clinical Course of Papillary Thyroid Carcinoma Based on Fine Needle Aspiration Biopsy Molecular Testing. Int. J. Mol. Sci. 2024, https://doi.org/10.3390/ijms25137090*
2. *Crescenzi, A., & Baloch, Z. (2023). Immunohistochemistry in the pathologic diagnosis and management of thyroid neoplasms. Frontiers in endocrinology, 14, 1198099. https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1198099*
3. *Song S, Kim H, Ahn SH. Role of Immunohistochemistry in Fine Needle Aspiration and Core Needle Biopsy of Thyroid Nodules. Clin Exp Otorhinolaryngol. 2019;12(2):224-230. doi:10.21053/ceo.2018.01011*
4. *Karatay, E., Javadov, M., & Kaya, H. (2023). Thyroid nodule core needle biopsy - current approach. Endokrynologia Polska, 74(6), 10.5603/ep.97053. https://doi.org/10.5603/ep.97053*
5. *Dolidze, D. D., Covantsev, S., Chechenin, G. M., Pichugina, N. V., Bedina, A. V., & Bumbu, A. (2024). Core needle biopsy for thyroid nodules assessment-a new horizon?. World journal of clinical oncology, 15(5), 580–586. https://doi.org/10.5306/wjco.v15.i5.580*

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

А

Абдулкадырова Н.Ш. 134
Абсалямова М.Т. 331
Агапова Е.А. 324
Агафонова Д.С. 267
Айрапетов М.И. 4, 77
Акино А.Д. 254
Алешина Г.М. 270
Ал Лабед А. 4
Альтаххан Я.Х.М. 255
Аметов Э.Н. 257, 258, 259
Анисимов А.А. 354
Анисимова А.Н. 274
Анисимов Д.Е. 350
Апраксина Н.К. 127, 170, 260, 331, 362, 409
Арипов О.А. 203
Артамонов А.Ю. 166
Арутюнян Е.А. 431
Асатрян Т.Т. 4
Асиеду-Баах Н. 266, 411
Афанасьева И.А. 294, 315
Афиногенова А.Г. 365
Ахмедов С.О. 262
Ахорходжаев К.А. 199, 405, 406

Б

Бабаков В.Н. 357
Баикина С.А. 10
Байдакова Г.В. 351
Байракова А.Л. 72
Байрамов А.А. 283, 345
Бакланов М.А. 370
Балаганский И.А. 263, 285, 348
Балалаева И.В. 394
Баранова Е.Д. 264, 289
Барсуков М.С. 375
Батищева Г.А. 57
Батова А.С. 274
Бахтиярова З.Д. 265
Бацуури У. 266, 411
Безнин Г.В. 267, 409
Белокоскова С.Г. 127, 267
Бердичевский Г.М. 268, 297
Бердникова А.А. 308
Березина Т.П. 290
Берлов М.Н. 270, 319, 357
Блаженко А.А. 219, 294, 315
Блюмкин Д.Б. 16
Бобков Д.Е. 327
Богатырева К.П. 272, 273
Богословская Т.Ю. 67
Божкова С.А. 319
Брагина О.Д. 477
Брусина М.А. 282, 369, 428
Буй Лан ань Ти 272
Бурак М.В. 359
Бурзашка Е. 278
Бурякова Л.В. 21
Бычков Е.Р. 282, 330, 345, 348, 350, 380, 426, 428

В

Вариошкин П.Н. 421
Васильев В.Б. 62, 327
Виноградова И.А. 27
Виноградова Ю.В. 274
Вирко В.А. 44
Владимирова Е.В. 238, 275, 319, 389
Власова М.А. 162
Воропаева А.В. 334
Ворсина М.К. 277
Вылегжанина А.Э. 415

Г

Галанкин Н.А. 31
Ганапольский В.П. 314

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Ганьшин И.Б. 255
Гатаулин Я.А. 414
Георги А. 278
Глушаков Р.И. 348
Головкин А.С. 254
Гольц В.А. 35, 174, 279, 345
Гончарова А.Я. 207
Горбунов Н.П. 270
Гордеев И.С. 274
Гордина Е.М. 319
Горностаева С.В. 361
Горшков Г.А. 39
Гребенкина П.В. 398
Гребенников М.А. 44
Григорьева Е.В. 351
Григорьев И.П. 313
Гришина Т.В. 238
Грудинина Н.А. 292
Гусева Н.Л. 382
Гусельникова В.В. 313
Гутцайт Е.Л. 370

Д

Давыдова Н.Г. 367
Давыдов Д.В. 274
Данилова Т.И. 49
Дашеева А.С. 440
Деданишвили Н.С. 281, 348
Денисова Е.А. 398
Дергачева Н.И. 194
Дергачёва Н.И. 260
Дергачев В.Д. 282
Деркаева А.А. 267
Дешева Ю.А. 277, 320, 321, 326
Дёшина Е.С. 158
Довженко Д.Ю. 263
Дробленков А.В. 283, 285, 287
Дружинин В.Г. 264, 289
Дудкин И.Ю. 301, 302, 303
Дуплик Н.В. 272, 273, 408
Дускаева А.Г. 244

Е

Евлахов В.И. 290
Евсеев А.В. 385
Евсеева М.А. 385
Егидарова Е.Ю. 120, 291, 408
Егорова Е.В. 270, 293, 319
Егоров В.В. 292
Елагина Н.Е. 447
Ереско С.О. 4, 77, 373
Ефет Е.А. 31

Ж

Жаркова М.С. 166, 238
Жданова О.А. 57

З

Заводова А.А. 452
Зайцева П.Е. 219, 294, 315
Заличева А.Б. 120, 134, 268, 273, 297
Захарова Е.Т. 62
Захарова Е.Ю. 351
Захарова Ф.М. 67
Зеленский Е.А. 87
Зенин Г.С. 238
Зинченко Е.В. 298
Зокиров Б.Б. 262
Зубкова Е.С. 72
Зырянова А.А. 120

И

Иванова А.А. 291
Иванов В.С. 301, 302, 303, 304, 305, 306
Иванов Н.А. 414
Иванов С.Д. 411
Игнатова П.Д. 77, 373

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Ильенко Л.И. 359
Ильюшонок С.К. 357
Исакова-Сивак И.Н. 62
Искровский С.В. 319

К

Калганов И.С. 81
Камалова М.Т.К. 428
Камилавкин В.А. 158
Карагезян К.М. 307
Каранина В.Д. 408
Карпова И.В. 282, 314
Карселадзе Н.Д. 359
Кафтырева Л.А. 353
Кацеров Д.С. 415
Каширин А.О. 380
Кашуро В.А. 266
Киселева Е.П. 87
Киселева И.В. 277
Клапшина Л.Г. 394
Клименко В.М. 146
Клименко Д.И. 282, 314
Кобелев Е. 457
Кокая Г.Н. 94
Колесникова И.А. 274
Колесникова И.С. 308
Колобов А.А. 151
Колокольцев К.М. 39
Колос Е.А. 62, 233
Комлев А.С. 219, 238, 270, 319
Кондакова Е.В. 340
Константинопольский М.А. 309
Конюхов Д.М. 312
Копытова А.Э. 351
Коржевский Д.Э. 62, 233, 313, 409
Коростелев М.Ю. 421
Корчагина Н.М. 327
Косинов З.А. 314
Костевич В.А. 270
Костина М.И. 279, 294, 315, 345
Косякова Г.П. 35, 57, 279, 343
Краева Л.А. 398
Крамскова М.А. 174
Кренев И.А. 270, 319, 357
Крылова И.Б. 380
Крылова Т.Г. 21
Крылова Э.А. 320
Кударь П.А. 320, 321
Кудрявцев И.В. 87, 178, 321
Кузнецова Ю.А. 382
Кузьмина А.Ю. 106
Куликов С.С. 394
Курбаниязова Ш.Э. 322
Куропатенко М.В. 324, 354, 375
Курпяева М.О. 326
Кустова М.Е. 327
Кушнаренко В.С. 308

Л

Лапина Н.В. 421
Лаптев М.В. 111
Ларионова Н.В. 277
Лебедев А.А. 151, 263, 281, 285, 330, 345, 346, 348, 350, 388, 417
Лебедев В.А. 281, 348, 350
Леонова Л.Е. 238
Леонтьева Г.Ф. 273
Лисовский А.Д. 287
Литасова Е.В. 282, 342, 369
Литвинова М.В. 330
Лиханская Е.И. 72
Лобанов И.С. 462
Лобановская К.М. 331
Логинова О.П. 332, 334, 336
Лоусон А.Х. 57

М

Маклакова И.Ю. 338
Маланчева Е.В. 207

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Мальцева С.В. 367
Маммедова Д.Т. 120, 134
Мамчиц А.А. 308
Мандельштам М.Ю. 67
Марухов А.В. 21
Марченко С.Р. 117
Матвеев Г.А. 321
Матвеевская П.А. 127, 331
Махмутов Р.Ф. 130
Махновецкая В.Б. 134
Медяник А.Д. 340
Межевалова А.С. 308
Мелашенко Т.В. 31
Мельникова М.В. 421
Меньшиков М.А. 140
Милевская А.С. 342
Мирская К.Л. 343
Мисопулос Й. 278
Моносов М.М. 398
Морозова А.О. 272, 408
Мосин О.А. 385
Мосолова С.Н. 345
Мухин В.Н. 146
Мхитаров В.А. 214

Н

Надбитова Н.Д. 151, 184, 346, 348, 419
Нгуен Доай Ван 272
Некрасов М.С. 184, 263, 281, 346, 348
Нетеса М.А. 350
Николаев М.А. 351
Новгородцева А.К. 353
Новикова Н.С. 268
Новикова Т.В. 354
Новикова Т.С. 324
Новиков Г.А. 130
Новицкая В.В. 62
Новоселова Н.Ю. 356
Ниониашвили Е.М. 62, 222

О

Оберемок А.Ю. 363
Оборин Н.Н. 357
Овчинникова Т.В. 270
Орехова П.А. 158, 162
Ореховская А.Г. 466
Орлов А.А. 255
Орлова В.В. 268, 297
Орлова Е.С. 140
Орлова Н.В. 359
Орлова Э.Б. 151, 184, 346
Орлов Д.С. 166, 238
Орлов С.В. 414
Отводникова Д.Е. 361

П

Павлик Е.Е. 274
Павлова С.В. 351
Палаткина П.А. 362
Пантелеева Н.В. 308
Пантелеев П.В. 270
Паткин Е.Л. 170, 194, 222, 249, 260
Пенева М. 278
Перова А.П. 35, 174, 363
Пестерева Н.С. 364
Петкова А. 278
Петрачкова Е.А. 365
Петрова Е.С. 62, 233
Петровский Е.Д. 472
Пигаревский П.В. 367
Поверинова Т.О. 369
Полуновский В.В. 308
Попова Е.А. 226
Попова Ю.О. 319
Потапкин А.М. 350
Проняева К.А. 472
Протас А.В. 226
Пунченко Е.В. 370
Пунченко О.Е. 370
Пчелина С.Н. 351

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Пюрвеев С.С. 184, 263, 281, 285, 346, 363, 372, 417

Р

Радеева А.В. 263
Редькин Т.С. 394
Рейнюк В.Л. 421
Рейпольская Т.Ю. 35, 279
Ренев Я.Н. 111
Родионова О.М. 380
Розиев Р.А. 207
Романова А.А. 477
Романовская А.В. 307
Романовский А.С. 373
Рубинский А.В. 374
Рубинштейн А.А. 178
Руденко Л.Г. 277
Русановский В.В. 57, 343
Рыжов М.В. 375

С

Садыкова Д.Р. 151, 184, 346
Салль Т.С. 414
Самусева П.Д. 10, 189
Сардарян И.С. 31
Сасина Л.К. 194
Сафарян С.М. 301, 302, 303
Сафина А.Р. 398
Сахарова С.К. 274
Северюхин Ю.С. 274
Селина Е.Н. 380
Сергеева А.Д. 151, 184, 346
Сергеева М.В. 320
Сергеев Т.В. 324
Серебряков В.В. 407
Сивакова А.А. 308
Сидельникова О.П. 21
Сизов В.В. 267, 364
Ситдикова К.К. 426
Слепцова Е.Е. 394
Смалайкина А.А. 428
Снегова В.А. 367
Соколов А.В. 87, 291
Соколова В.А. 327
Соколова Д.П. 343
Соколова Е.А. 382
Соколов Д.И. 398
Соколовский Д.Д. 320, 321
Сосин Д.В. 385
Софронов Г.А. 170, 194
Станкевич Ю.А. 472
Старикова Э.А. 120, 134
Степаненко Д.А. 383, 384
Степанов Д.В. 385
Стешина Е.В. 274
Стукова М.А. 320
Суборова Т.Н. 21
Суворов А.Н. 272, 408
Суров Д.В. 343, 388
Сухарева М.С. 238, 275, 319, 389
Сучкова И.О. 170, 194, 222, 249, 260
Сюрина С.А. 483

Т

Тадтаева З.Г. 31
Тамаева С.М. 486
Танянский Д.А. 35, 174, 279
Тарабыкин В.С. 340
Таширева Л.А. 477
Терешина В.С. 293
Тиганова О.А. 359
Титов М.Ю. 492
Торкунова Е.В. 62
Трулев А.С. 87, 321
Тулаганова С.Б. 392
Тулупов А.А. 472
Турубанова В.Д. 394
Тухтаева О.Т. 396
Тыщук Е.В. 398

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

У

Ураков А.Л. 400
Уракова Н.А. 400
Усмонова Д.С. 283
Устинова В.М. 499
Утина Д.М. 274

Ф

Фалеева В.С. 404
Филатенкова Т.А. 238, 297, 408, 411
Фролкова К.А. 314
Фролова А.В. 274

Х

Хабибуллоевич М.М. 203
Хаджаева Д.Х. 199, 405, 406
Холкузиева Р.Х. 407
Холматов Ш.И. 203
Хомякова Т.И. 207, 214
Хомяков Ю.Н. 207, 214
Хохлов П.П. 219, 345
Хузина А.Р. 394

Ц

Цапиева А.Н. 272, 408
Целис суэскун Хуан камило 340
Церцеил В.В. 16
Цикунов С.Г. 127, 170, 260, 267, 331, 409
Цой В.И. 72
Цыгикало А.А. 504
Цымбал С.А. 361

Ч

Частикова А.Е. 409
Челышева Л.А. 222
Черкассова Р.Д. 364
Чернов А.Н. 238, 266, 411
Чернов И.С. 226
Чернов К.В. 361
Чумасов Е.И. 233
Чураков Г.А. 414

Ш

Шабанов П.Д. 4, 77, 151, 184, 263, 281, 282, 330, 345, 346, 348, 350, 380, 388, 400, 417, 419, 426, 428
Шалагинова И.Г. 415
Шалина Я.А. 417
Шамаева С.А. 151, 184, 346, 419
Шамова О.В. 166, 238, 266, 270, 275, 319, 411
Шанин С.Н. 357
Шейда Е.В. 244
Шемаев М.Е. 421

Щ

Щербак Н.С. 249

Э

Эргашев О.Н. 285, 319
Эрхитуева Е.Б. 226
Эшкулова Г.А. 423

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Ю

Южакова Д.В. 394
Юсупова З.Д. 424
Юхнев А.Д. 414

Я

Яковлева В.Г. 426, 428
Яковлева Е.Е. 282, 426, 428
Якушева А.С. 512

B

Baryshnikova N. 420

L

Lima Emília Maria França 329
Lyudyno V.I. 387

S

Saidaminbek S.M. 377
Santosh Kumar Tiwari 379
Sharygina K. 420
Suvorova M.A. 387

T

Todorov Svetoslav Dimitrov 329

СОДЕРЖАНИЕ

СТАТЬИ

РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ ПО МАРКЕРАМ НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ В МОДЕЛИ УДАРНО-ВЗРЫВНОЙ ТРАВМЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА
Ал Лабед А., Ереско С.О., Айрапетов М.И., Асатрян Т.Т., Шабанов П.Д. 4

ОНТОГЕНЕЗ-ОПОСРЕДОВАННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ УДЕЛЬНОГО СОДЕРЖАНИЯ МЕДИ В ОРГАНИЗМЕ CAENORHABDITIS ELEGANS С МУТАЦИЕЙ H828Q В CUA-1, ОРТОЛОГЕ ATP7B ЧЕЛОВЕКА
Баикина С.А., Самусева П.Д. 10

РОЛЬ ESKAPE-ГРУППЫ В РАЗВИТИИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ МЕНИНГИТОВ У ГОСПИТАЛИЗИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ: СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ И ДАННЫЕ СОБСТВЕННОГО КЛИНИЧЕСКОГО НАБЛЮДЕНИЯ
Блюмкин Д.Б., Церцеил В.В. 16

АНАЛИЗ СПЕКТРА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ И ДИНАМИКИ ИХ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ У ПАЦИЕНТОВ МНОГОПРОФИЛЬНОГО МЕДИЦИНСКОГО СТАЦИОНАРА
Бурякова Л.В., Суборова Т.Н., Сидельникова О.П., Крылова Т.Г., Марухов А.В. 21

ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПЕПТИДОВ ПРИ ИНФЕКЦИОННЫХ ПАТОЛОГИЯХ: ПЕРСПЕКТИВЫ И ОГРАНИЧЕНИЯ
Виноградова И.А. 27

ВЛИЯНИЕ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ABC-ТРАНСПОРТЕРОВ НА РАЗВИТИЕ ФАРМАКОРЕЗИСТЕНТНОЙ ЭПИЛЕПСИИ
Галанкин Н.А., Тадтаева З.Г., Сардарян И.С., Ефет Е.А., Мелашенко Т.В. 31

СОДЕРЖАНИЕ

ВЛИЯНИЕ КИССПЕПТИНА-6 И КИССПЕПТИНА-10
НА ЭКСПРЕССИЮ АНДРОГЕНОВОГО РЕЦЕПТОРА
У DANIO RERIO ПОСЛЕ СОЦИАЛЬНОЙ ИЗОЛЯЦИИ
В ТЕСТЕ ПОЛОВОГО ПОВЕДЕНИЯ
Гольц В.А., Косякова Г.П., Рейпольская Т.Ю.,
Танянский Д.А., Перова А.П. 35

ГЕНЕРАЛИЗОВАННАЯ ЛИМФАТИЧЕСКАЯ АНОМАЛИЯ:
СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПАТОГЕНЕЗЕ,
ДИАГНОСТИКЕ И ТЕРАПИИ
Горшков Г.А., Колокольцев К.М. 39

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ИСКУССТВЕННОГО
ИНТЕЛЛЕКТА ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ
УСТОЙЧИВОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ
К АНТИБИОТИКАМ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)
Гребенников М.А., Вирко В.А. 44

ОТ КИШЕЧНИКА К МОЗГУ: МУЛЬТИСИСТЕМНОЕ
ВЛИЯНИЕ МИКРОБИОМА НА ЗДОРОВЬЕ
Данилова Т.И. 49

СТРАТЕГИИ ПЕРСОНИФИКАЦИИ ФАРМАКОТЕРАПИИ
ПОРТАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ ПРИ ЦИРРОЗЕ ПЕЧЕНИ
Жданова О.А., Батищева Г.А., Лоусон А.Х.,
Косякова Г.П., Русановский В.В. 57

ВЫЖИВАЕМОСТЬ И МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ
ИССЛЕДОВАНИЕ ЛЕГКИХ НИЗКО-
И ВЫСОКОУСТОЙЧИВЫХ К ГИПОКСИИ МЫШЕЙ
ПОСЛЕ ЗАРАЖЕНИЯ ВИРУСОМ ГРИППА A/H1N1
Захарова Е.Т., Нониашвили Е.М., Васильев В.Б., Новицкая В.В.,
Торкунова Е.В., Исакова-Сивак И.Н., Петрова Е.С.,
Колос Е.А., Коржевский Д.Э. 62

РОЛЬ PCSK9 В РАЗВИТИИ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ
И ПРИМЕНЕНИЕ ИНГИБИТОРОВ PCSK9
ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ АТЕРОСКЛЕРОЗА
Захарова Ф.М., Богословская Т.Ю., Мандельштам М.Ю. 67

СОДЕРЖАНИЕ

ИЗУЧЕНИЕ АНТАГОНИЗМА МИКРООРГАНИЗМОВ РОДА LACTOBACILLUS ПО ОТНОШЕНИИ К ИЗОЛЯТАМ CANDIDA ALBICANS
Зубкова Е.С., Байракова А.Л., Лиханская Е.И., Цой В.И. 72

ВЛИЯНИЕ ДОКСИЦИКЛИНА НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ DANIO RERIO В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПРЕРЫВИСТОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ
Игнатова П.Д., Ереско С.О., Айрапетов М.И., Шабанов П.Д. 77

СОВРЕМЕННЫЕ СТРАТЕГИИ ДИЗАЙНА И КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ ПРИ ИНФЕКЦИЯХ, ВЫЗВАННЫХ РЕЗИСТЕНТНЫМИ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫМИ БАКТЕРИЯМИ
Калганов И.С. 81

ВОССТАНОВЛЕНИЕ ТИМУСА ПРИ ОПУХОЛЕВОМ РОСТЕ С ПОМОЩЬЮ СОЛЕЙ ЦИНКА
Киселева Е.П., Трулев А.С., Зеленский Е.А., Кудрявцев И.В., Соколов А.В. 87

МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ОНКОГЕННОГО РИСКА ПОСЛЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ФИТОТОКСИКАНТОВ БОЕВОГО ПРИМЕНЕНИЯ: МОЛЕКУЛЯРНЫЕ, ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ПАРАЛЛЕЛИ
Кокая Г.Н. 94

ПИЩЕВЫЕ ВОЛОКНА В ПРОФИЛАКТИЧЕСКОМ И ЛЕЧЕБНО-ОЗДОРОВИТЕЛЬНОМ ПИТАНИИ ОТДЕЛЬНЫХ ГРУПП НАСЕЛЕНИЯ
Кузьмина А.Ю. 106

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ТКАНЕВОЙ ГИПОКСИИ КАК СТРАТЕГИЯ ПРОДЛЕНИЯ АКТИВНОГО ДОЛГОЛЕТИЯ: СИСТЕМАТИЧЕСКИЙ ОБЗОР
Лаптев М.В., Ренев Я.Н. 111

МАГНИЙ, КАЛЬЦИЙ, СТРОНЦИЙ И ВИТАМИН D В ПРОФИЛАКТИКЕ ОСТЕОПОРОЗА И САРКОПЕНИИ У ПОЖИЛЫХ ЛЮДЕЙ
Марченко С.Р. 117

СОДЕРЖАНИЕ

НАРУШЕНИЕ БАРЬЕРНЫХ СВОЙСТВ ЭПИТЕЛИЯ ПОД ВЛИЯНИЕМ СТРЕПТОКОККОВОЙ АРГИНИНДЕИМИНАЗЫ
Маммедова Д.Т., Зырянова А.А., Заличева А.Б., Егидарова Е.Ю., Старикова Э.А. 120

СПОСОБЫ КОРРЕКЦИИ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ У КРЫС, ПЕРЕЖИВШИХ ВИТАЛЬНЫЙ СТРЕСС
Матвеевская П.А., Апраксина Н.К., Белокоскова С.Г., Цикунов С.Г. 127

УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ДИАГНОСТИКА ПРИЧИН ОСТРОЙ АБДОМИНАЛЬНОЙ БОЛИ У ДЕТЕЙ РАННЕГО И ДОШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА
Махмутов Р.Ф., Новиков Г.А. 130

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПОДАВЛЕНИЯ АКТИВАЦИИ Т-КЛЕТОК СТРЕПТОКОККОВОЙ АРГИНИНДЕИМИНАЗОЙ
Махновецкая В.Б., Абдулкадырова Н.Ш., Маммедова Д.Т., Заличева А.Б., Старикова Э.А. 134

ВИРУС-БАКТЕРИАЛЬНЫЙ СИНЕРГИЗМ И ДИСБИОЗ МИКРОБИОТЫ КАК КЛЮЧЕВЫЕ ФАКТОРЫ ТЯЖЁЛЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ СУПЕРИНФЕКЦИЙ: ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ И НОВЫЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ МИШЕНИ
Меньшиков М.А., Орлова Е.С. 140

ГАБИТУАЦИЯ ОБЪЕМНОЙ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ НЕЙРОТРАНСМИССИИ КАК ПРОЯВЛЕНИЕ НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТИ: ОБЗОР ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ДАННЫХ И ПЕРСПЕКТИВЫ
Мухин В.Н., Клименко В.М. 146

КОРРЕКЦИЯ КОМПУЛЬСИВНОГО ПЕРЕЕДАНИЯ И СОПУТСТВУЮЩЕЙ ТРЕВОЖНОСТИ У САМОК КРЫС С ПОМОЩЬЮ НОВОГО ПЕПТИДА ЛИЗАГРЕЛ
Надбитова Н.Д., Шамаева С.А., Колобов А.А., Садыкова Д.Р., Сергеева А.Д., Орлова Э.Б., Лебедев А.А., Шабанов П.Д. 151

СОДЕРЖАНИЕ

ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕБНАЯ ТАКТИКА
ПРИ ОСТРОМ СЕПСИСЕ, ОБУСЛОВЛЕННОМ БИЛИАРНОЙ
ПАТОЛОГИЕЙ ЖЕЛЧЕКАМЕННОГО ГЕНЕЗА
Орехова П.А., Дёшина Е.С., Камилавкин В.А. 158

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ ТЕРАПИИ
ПИЩЕВЫХ РАССТРОЙСТВ: МУЛЬТИМОДАЛЬНЫЕ
И МЕЖДИСЦИПЛИНАРНЫЕ РЕШЕНИЯ
Орехова П.А., Власова М.А. 162

СИНТЕТИЧЕСКИЕ АНАЛОГИ АНТИМИКРОБНЫХ
ПЕПТИДОВ И ИХ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ
Орлов Д.С., Жаркова М.С., Шамова О.В., Артамонов А.Ю. 166

ВЛИЯНИЕ БИСФЕНОЛА А НА ПОВЕДЕНИЕ
И ЭПИГЕНОМНЫЙ СТАТУС ЛЕЙКОЦИТОВ У САМОК КРЫС
Паткин Е.Л., Сучкова И.О., Апраксина Н.К.,
Цикунов С.Г., Софронов Г.А. 170

ВЛИЯНИЕ КИССПЕПТИНА-6 И КИССПЕПТИНА-10
НА ЭКСПРЕССИЮ KISS1RA И KISS1RB В МОЗГЕ
DANIO RERIO ПОСЛЕ СОЦИАЛЬНОЙ ИЗОЛЯЦИИ
И ТЕСТА ПОЛОВОГО ПОВЕДЕНИЯ
Перова А.П., Гольц В.А., Танянский Д.А., Крамскова М.А. 174

ИЗМЕНЕНИЯ В ГУМОРАЛЬНОМ ЗВЕНЕ
АДАПТИВНОГО ИММУНИТЕТА У ПАЦИЕНТОВ
С АНКИЛОЗИРУЮЩИМ СПОНДИЛИТОМ,
АССОЦИИРОВАННЫМ С БОЛЕЗНЬЮ КРОНА
Рубинштейн А.А., Кудрявцев И.В. 178

ВЛИЯНИЕ АНТАГОНИСТА ГРЕЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ
АГРЕЛАКСА НА СТРЕСС-АССОЦИИРОВАННОЕ
КОМПУЛЬСИВНОЕ ПЕРЕЕДАНИЕ У КРЫС
Садыкова Д.Р., Надбитова Н.Д., Шамаева С.А., Орлова Э.Б.,
Сергеева А.Д., Пюрвеев С.С., Некрасов М.С., Шабанов П.Д. 184

МЕТАЛЛ-ИНДУЦИРОВАННЫЙ ОТВЕТ
МИТОХОНДРИЙ CAENORHABDITIS ELEGANS
С НАРУШЕННЫМ ТРАНСПОРТОМ МЕДИ
Самусева П.Д. 189

СОДЕРЖАНИЕ

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ IN SITU ПОЛНОГЕНОМНОГО УРОВНЯ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК В ИНТЕРФАЗНЫХ ЯДРАХ HEPG2 ПОСЛЕ 72 Ч ВОЗДЕЙСТВИЯ БИСФЕНОЛА А И ХЛОРИДА КАДМИЯ
Сучкова И.О., Дергачева Н.И., Сасина Л.К., Паткин Е.Л., Софронов Г.А. 194

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОТЫ ЛОР-ОРГАНОВ ПРИ ГНОЙНО-СЕПТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ У ДЕТЕЙ
Хаджаева Д.Х., Ахрорходжаев К.А. 199

МОНИТОРИНГ УРОВНЯ ТЕСТОСТЕРОНА У МУЖЧИН С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИММУНОКОМПЛЕКСНЫХ МЕТОДОВ
Холматов Ш.И., Арипов О.А., Хабибуллоевич М.М. 203

ВНЕЭРИТРОЦИТАРНЫЙ ГЕМОГЛОБИН: ЭФФЕКТ ЗАВИСИТ ОТ ДОЗЫ
Хомякова Т.И., Розиев Р.А., Гончарова А.Я., Хомяков Ю.Н., Маланчева Е.В. 207

РОЛЬ КОМОРБИДНОСТИ И ПОЛИПРАГАЗИИ В РАЗВИТИИ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ АНЕВРИЗМАТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ АОРТЫ
Хомякова Т.И., Мхитаров В.А., Хомяков Ю.Н. 214

ИССЛЕДОВАНИЕ СИСТЕМЫ КИССПЕПТИНОВОГО СИГНАЛИНГА. УСПЕХИ И ЗАТРУДНЕНИЯ
Хохлов П.П., Блаженко А.А., Комлев А.С., Зайцева П.Е. 219

ИЗМЕНЕНИЕ ПОЛНОГЕНОМНОГО УРОВНЯ ГИСТОНА H3K9ME3 НА СТАДИИ МОРУЛЫ И БЛАСТОЦИСТЫ МЫШЕЙ ПОСЛЕ 72 И 96 ЧАСОВ ВОЗДЕЙСТВИЯ БИСФЕНОЛА А И АПО-ЛАКТОФЕРРИНА ЧЕЛОВЕКА
Челышева Л.А., Ноniашвили Е.М., Сучкова И.О., Паткин Е.Л. 222

СИНТЕЗ И МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ДОКИНГ ИЗОМЕРНЫХ ГИБРИДОВ 4,6-ДИМОРФОЛИНО-1,3,5-ТРИАЗИНА И НИТРОБЕНЗИМИДАЗОЛА КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ БИТАРГЕТНЫХ ИНГИБИТОРОВ PI3K И PARP1
Чернов И.С., Эрхитуева Е.Б., Протас А.В., Попова Е.А. 226

СОДЕРЖАНИЕ

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ИННЕРВАЦИИ НИЖНЕГО ПИЩЕВОДНОГО СФИНКТЕРА КРЫСЫ
Чумасов Е.И., Петрова Е.С., Колос Е.А., Коржевский Д.Э. 233

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ В ЭТИОТРОПНОЙ, ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ, САНОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ИНФЕКЦИОННЫХ И ОПУХОЛЕВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ
Шамова О.В., Орлов Д.С., Жаркова М.С., Сухарева М.С., Владимирова Е.В., Гришина Т.В., Леонова Л.Е., Филатенкова Т.А., Чернов А.Н., Комлев А.С., Зенин Г.С. 238

ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ И ПОВЕДЕНИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ПОСТУПЛЕНИИ В ОРГАНИЗМ АСПАРАГИНАТА ХРОМА
Шейда Е.В., Дускаева А.Г. 244

МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК КАК ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ НЕЙРОПРОТЕКЦИИ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОМ ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА
Щербак Н.С., Сучкова И.О., Паткин Е.Л. 249

ТЕЗИСЫ

ПРОТОЧНАЯ ЦИТОМЕТРИЯ КАК ИНСТРУМЕНТ ФЕНОТИПИРОВАНИЯ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ: ПЕРСПЕКТИВЫ В ДИАГНОСТИКЕ ИММУНООПОСРЕДОВАННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ
Акино А.Д., Головкин А.С. 254

ОСТЕОИНТЕГРАЦИЯ И НЕООСТЕОГЕНЕЗ У КРЫС С МОДЕЛИРОВАННЫМ СКВОЗНЫМ ДЕФЕКТОМ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ, ЗАПОЛНЕННЫМ АЛЛОТРАНСПЛАНТАТОМ С/БЕЗ ОБРАБОТКОЙ РАСТВОРОМ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ ИЗ ФИБРОБЛАСТОВ
Альтаххан Я.Х.М., Орлов А.А., Ганьшин И.Б. 255

СОДЕРЖАНИЕ

НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА АНТИОКСИДАНТОВ И МОДУЛЯТОРОВ МЕТАБОЛИЗМА: ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ
Аметов Э.Н. 257

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЭНДОКРИННОЙ ДЕСТРУКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ СТОЙКИМИ ОРГАНИЧЕСКИМИ ЗАГРЯЗНИТЕЛЯМИ: ВЛИЯНИЕ НА РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ И МЕТАБОЛИЗМ
Аметов Э.Н. 258

РОЛЬИ ИММУННОГО МИКРООКРУЖЕНИЯ В ПРОТИВОВИРУСНОМ ОТВЕТЕ
Аметов Э.Н. 259

МЕХАНИЗМЫ РАССТРОЙСТВ ПОВЕДЕНИЯ ПОТОМСТВА ОТ МАТЕРЕЙ, ПЕРЕЖИВШИХ ВИТАЛЬНЫЙ СТРЕСС
Апраксина Н.К., Сучкова И.О., Дергачёва Н.И., Цикунов С.Г., Паткин Е.Л. 260

ПЕРСИСТИРУЮЩЕЕ УРЕМИЧЕСКОЕ ВОСПАЛЕНИЕ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ У БОЛЬНЫХ ХПН
Ахмедов С.О., Зокиров Б.Б. 262

МОДЕЛИРОВАНИЕ РИСКОВАННОГО ВЫБОРА У КРЫС ПРИ ВНУТРИМОЗГОВОЙ САМОСТИМУЛЯЦИИ
Балаганский И.А., Пюрвеев С.С., Лебедев А.А., Радеева А.В., Шабанов П.Д., Довженко Д.Ю., Некрасов М.С. 263

ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ СОСТАВ МИКРОБИОТЫ МОКРОТЫ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЕГКОГО
Баранова Е.Д., Дружинин В.Г. 264

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ПРИВИЛЕГИЯ ГЛАЗА И ЕЕ ПЕРЕСТРОЙКА ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ
Бахтиярова З.Д. 265

СОДЕРЖАНИЕ

КОРРЕЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ МАРКЕРОВ В КЛЕТКАХ ГЛИОБЛАСТОМЫ С ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ К КАТЕЛИЦИДИНУ LL-37, ПРОТЕГРИНУ PG-1 И ФАКТОРУ РОСТА НЕРВОВ NGF
Бацуури У., Асиеду-Баах Н., Чернов А.Н., Кашуро В.А., Шамова О.В. 266

ВЛИЯНИЕ 1-ДЕЗАМИНО-8-D-АРГИНИН-ВАЗОПРЕССИНА НА ПОВЕДЕНИЕ КРЫС В НОРМЕ И В ПОЗДНЕМ ПЕРИОДЕ ПОСЛЕ ВИТАЛЬНОГО СТРЕССА
Безнин Г.В., Агафонова Д.С., Деркаева А.А., Сизов В.В., Белокоскова С.Г., Цикунов С.Г. 267

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ГАММА-АМИНОМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ В ПРЕПАРАТАХ ЛАКТОБАЦИЛЛ МЕТОДОМ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМТЕРИИ
Бердичевский Г.М., Заличева А.Б., Новикова Н.С., Орлова В.В. 268

МОДУЛЯЦИЯ АКТИВАЦИИ СИСТЕМЫ КОМПЛЕМЕНТА АНТИМИКРОБНЫМИ ПЕПТИДАМИ
Берлов М.Н., Кренев И.А., Егорова Е.В., Комлев А.С., Горбунов Н.П., Костевич В.А., Пантелеев П.В., Овчинникова Т.В., Алешина Г.М., Шамова О.В. 270

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ АУТЕНТИЧНЫХ ПРОДУКТОВ ВЬЕТНАМА
Богатырева К.П., Цапиева А.Н., Морозова А.О., Дуплик Н.В., Буй Лан ань Ти, Нгуен Доай Ван, Суворов А.Н. 272

РАЗРАБОТКА ПРОТОКОЛА ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE В ТКАНИ ЛЕГКИХ МЫШЕЙ
Богатырева К.П., Заличева А.Б., Дуплик Н.В., Леонтьева Г.Ф. 273

ИЗМЕНЕНИЯ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ И ЭЛЕКТРОКОРТИКОГРАММЫ КРЫС ПОСЛЕ ЛОКАЛЬНОГО РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА
Виноградова Ю.В., Северюхин Ю.С., Колесникова И.А., Утина Д.М., Фролова А.В., Гордеев И.С., Батова А.С., Сахарова С.К., Стешина Е.В., Давыдов Д.В., Павлик Е.Е., Анисимова А.Н. 274

СОДЕРЖАНИЕ

ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМБИНАЦИЙ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ В ЭТИОТРОПНОЙ ТЕРАПИИ РАНЕВЫХ ИНФЕКЦИЙ, ВЫЗЫВАЕМЫХ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫМИ БАКТЕРИЯМИ
Владимирова Е.В., Сухарева М.С., Шамова О.В. 275

ПЕРСПЕКТИВЫ ИНТЕГРАЦИИ КЛАССИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ В РАЗРАБОТКЕ ЖИВЫХ ПРОТИВОГРИППОЗНЫХ ВАКЦИН НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ
Ворсина М.К., Ларионова Н.В., Киселева И.В., Руденко Л.Г., Дешева Ю.А. 277

ВЛИЯНИЕ LACTOBACILLUS BULGARICUS DWT1 НА ВУЛЬВОВАГИНАЛЬНЫЙ КАНДИДОЗ
Георги А., Петкова А., Пенева М., Бурзашка Е., Мисопулос Й. 278

ВЛИЯНИЕ КИССПЕПТИНА-10 НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА АНДРОГЕНОВОГО РЕЦЕПТОРА В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ И ГОНАДАХ КРЫС ПОСЛЕ СТРЕССОРНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ
Гольц В.А., Костина М.И., Косякова Г.П., Рейпольская Т.Ю., Танянский Д.А. 279

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВАЦИЯ РЕЦЕПТОРОВ GLP-1 СНИЖАЕТ ИМПУЛЬСИВНОСТЬ В МОДЕЛИ РАННЕГО СТРЕССОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ У КРЫС
Деданишвили Н.С., Пюрвеев С.С., Лебедев А.А., Некрасов М.С., Лебедев В.А., Шабанов П.Д. 281

ВЛИЯНИЕ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫЕ ИМИДАЗОЛ-4,5-ДИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ НА ОБМЕН МОНОАМИНОВ В СТРУКТУРАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА У КРЫС
Дергачев В.Д., Клименко Д.И., Карпова И.В., Брусина М.А., Литасова Е.В., Яковлева Е.Е., Бычков Е.Р., Шабанов П.Д. 282

КИССПЕПТИН KISS6 КОМПЕНСИРУЕТ ПОСТИШЕМИЧЕСКИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ КЛЕТОК ЯИЧНИКА, ВЫРАБАТЫВАЮЩИХ ПОЛОВЫЕ СТЕРОИДЫ У КРЫС
Дробленков А.В., Усмонова Д.С., Байрамов А.А. 283

СОДЕРЖАНИЕ

МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ОСМЫСЛЕНИЮ НЕВРОГЕННО-ЭНДОКРИННОЙ ТЕОРИИ ПАТОГЕНЕЗА ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ ЖЕЛУДКА: НОВЫЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ДАННЫЕ
Дробленков А.В., Лебедев А.А., Пюрвеев С.С., Балаганский И.А., Эргашев О.Н. 285

ИЗМЕНЕНИЯ ЧИСЛА РЕЦЕПТОРОВ ТЕСТОСТЕРОНА ОПРЕДЕЛЯЕТ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ ГОМЕОСТАЗИС ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-ЯИЧКОВОЙ ЭНДОКРИННОЙ ОСИ
Дробленков А.В., Лисовский А.Д. 287

ОСОБЕННОСТИ КИШЕЧНОГО И РЕСПИРАТОРНОГО МИКРОБИОМА У БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ ИЗ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ
Дружинин В.Г., Баранова Е.Д. 289

МИКРОЦИРКУЛЯЦИЯ В ЛЕГКИХ У КРОЛИКОВ ПРИ ТРОМБОЭМБОЛИИ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ ЭКСТРАКТОВ ВОЛОДУШКИ ЗОЛОТИСТОЙ И ДОННИКА ЛЕКАРСТВЕННОГО
Евлахов В.И., Березина Т.П. 290

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ РЕКОМБИНАНТНОЙ АРГИНИНДЕИМИНАЗЫ STREPTOCOCCUSPYOGENES НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ КЛЕТОК АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЛЕГКОГО А549
Егидарова Е.Ю., Иванова А.А., Соколов А.В. 291

КОМПЛЕКСЫ АЛЬБУМИНА И ФИБРИЛЛОГЕННЫХ БЕЛКОВ: ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ АМИЛОИДОЗОВ
Егоров В.В., Грудинина Н.А. 292

ЗАМЕНА ПРОТИВОИОНА В АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДАХ
Егорова Е.В., Терешина В.С. 293

СОДЕРЖАНИЕ

ВОЗДЕЙСТВИЕ ЭКЗОГЕННОГО АНАЛОГА KISS1 НА УРОВЕНЬ КОРТИЗОЛА В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ DANIO RERIO
Зайцева П.Е., Костина М.И., Афанасьева И.А., Блаженко А.А. 294

ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ НА ВЕС И УРОВЕНЬ ГЛЮКОЗЫ У МЫШЕЙ В ПЕРИОД СТАРЕНИЯ
Заличева А.Б., Филатенкова Т.А., Орлова В.В., Бердичевский Г.М. 297

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ДЕФЕКТА КОСТИ И ВВЕДЕНИЯ АЛЛОГЕННЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА РЕГЕНЕРАЦИЮ КОСТНОЙ ТКАНИ: СТАТИСТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ЭФФЕКТОВ
Зинченко Е.В. 298

ВЛИЯНИЕ ПАРАМЕТРОВ КОНЪЮГАЦИИ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ С ФЛУОРЕСЦЕНТНЫМИ МИКРОСФЕРАМИ НА ХАРАКТЕРИСТИКИ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ ТЕСТ-СИСТЕМ
Иванов В.С., Дудкин И.Ю., Сафарян С.М. 301

РАЗРАБОТКА ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ D-ДИМЕРА
Иванов В.С., Сафарян С.М., Дудкин И.Ю. 302

ЕВРОПИЙ-СОДЕРЖАЩИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ МИКРОСФЕРЫ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ МАТЕРИАЛ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ ТЕСТ-СИСТЕМ
Иванов В.С., Сафарян С.М., Дудкин И.Ю. 303

РАЗРАБОТКА КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ D-ДИМЕРА В ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ И ПЛАЗМЕ ЧЕЛОВЕКА
Иванов В.С. 304

РАЗРАБОТКА КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СЕРДЕЧНОГО ТРОПОНИНА I
Иванов В.С. 305

СОДЕРЖАНИЕ

ОПТИМИЗАЦИЯ КОНСТРУКЦИИ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ЧЕТВЁРТОГО ПОКОЛЕНИЯ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИГЕНА Р24 И АНТИТЕЛ К ВИЧ-1/2
Иванов В.С. 306

РОЛЬ ЛЕПТИН-АССОЦИИРОВАННОЙ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ДИСФУНКЦИИ В ПАТОГЕНЕЗЕ КЛИМАКТЕРИЧЕСКОГО СИНДРОМА КАК ФАКТОРА КАРДИОМЕТАБОЛИЧЕСКОГО РИСКА
Карагезян К.М., Романовская А.В. 307

ИССЛЕДОВАНИЕ ЧАСТОТ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ЦИТОХРОМОВ-МЕТАБОЛИЗЁРОВ АНТИДЕПРЕССАНТОВ В РОССИЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ
Колесникова И.С., Бердникова А.А., Кушнаренко В.С., Пантелеева Н.В., Мамчиц А.А., Межевалова А.С., Сивакова А.А., Полуновский В.В. 308

ПЕПТИДЕРГИЧЕСКАЯ МОДУЛЯЦИЯ ТОЛЕРАНТНОСТИ И ЗАВИСИМОСТИ, ВЫЗВАННЫХ ОПИОИДАМИ. ОЦЕНКА ЕЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ НА ПОВЕДЕНЧЕСКИХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЯХ
Константинопольский М.А. 309

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ В РЕАНИМАЦИИ НОВОРОЖДЕННЫХ: ОПЫТ ЛОКАЛЬНОГО МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА
Конюхов Д.М. 312

ТЕЛЬЦА МАРИНЕСКО, НЕЙРОМЕЛАНИН И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ СТАТУС НЕЙРОНОВ ЧЕРНОГО ВЕЩЕСТВА ГОЛОВНОГО МОЗГА
Коржевский Д.Э., Григорьев И.П., Гусельникова В.В. 313

ИЗМЕНЕНИЕ ОБМЕНА МОНОАМИНОВ В ГИППОКАМПЕ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВИСЦЕРАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ
Косинов З.А., Клименко Д.И., Фролкова К.А., Ганапольский В.П., Карпова И.В. 314

СОДЕРЖАНИЕ

ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ В СТЕРОИДНОМ ОТВЕТЕ ЗРЕЛЫХ ОСОБЕЙ DANIO RERIO НА ЭКЗОГЕННЫЕ КИССПЕПТИНЫ
Костина М.И., Афанасьева И.А., Зайцева П.Е., Блаженко А.А. 315

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ИМПЛАНТАТ-АССОЦИИРОВАННЫХ ИНФЕКЦИЙ
Кренев И.А., Владимирова Е.В., Сухарева М.С., Божкова С.А., Гордина Е.М., Комлев А.С., Егорова Е.В., Берлов М.Н., Попова Ю.О., Искровский С.В., Шамова О.В., Эргашев О.Н. 319

ОЦЕНКА ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА К ВИРУСАМ ГРИППА A/H2N2 У ЛИЦ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ СЕЗОННЫМИ ТРЕХВАЛЕНТНЫМИ ВАКЦИНАМИ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО СЕЗОНА 2023-2024 ГГ.
Крылова Э.А., Дешева Ю.А., Кударь П.А., Соколовский Д.Д., Стукова М.А., Сергеева М.В. 320

ГУМОРАЛЬНЫЙ И КЛЕТОЧНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ НА ВИРУС ГРИППА A/H2N2 У ПАЦИЕНТОВ РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП
Кударь П.А., Соколовский Д.Д., Кудрявцев И.В., Трулев А.С., Матвеев Г.А., Дешева Ю.А. 321

МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ СЕЗОННОГО АФФЕКТИВНОГО РАССТРОЙСТВА
Курбаниязова Ш.Э. 322

УРОВЕНЬ КОРТИЗОЛА И ДЕГИДРОЭПИАНДРОСТЕРОНА В СЛЮНЕ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ОСТРОГО СТРЕССА
Куропатенко М.В., Агапова Е.А., Новикова Т.С., Сергеев Т.В. 324

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МУТАЦИЙ ГЕМАГГЛЮТИНИНА ВИРУСА ГРИППА A(H3N2) ПОДКЛАДЫ К В ПРОЦЕССЕ АНТИГЕННОГО ДРЕЙФА
Курпяева М.О., Дешева Ю.А. 326

МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДНК НАСЛЕДУЕТСЯ ПО ОТЦОВСКОЙ ЛИНИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА МЫШАХ: ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ OXPHOS327
Кустова М.Е., Соколова В.А., Корчагина Н.М., Бобков Д.Е., Васильев В.Б. 327

СОДЕРЖАНИЕ

BACTERIOCIN-PRODUCING LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM BRAZILIAN FERMENTED FOODS: SAFETY ASSESSMENT, ANTIMICROBIAL POTENTIAL, AND STABILITY
Lima Emília Maria França, Todorov Svetoslav Dimitrov 329

ИНТРАНАЗАЛЬНАЯ ДОСТАВКА КИССПЕПТИНА-10 И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЕГО ЦЕНТРАЛЬНОГО ЭФФЕКТА
Литвинова М.В., Лебедев А.А., Бычков Е.Р., Шабанов П.Д. 330

ВЛИЯНИЕ МАТЕРИНСКОЙ ЗАБОТЫ САМОК КРЫС С ПСИХИЧЕСКОЙ ТРАВМОЙ НА ФОРМИРОВАНИЕ ПСИХОНЕВРОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ПОТОМСТВА
Лобановская К.М., Апраксина Н.К., Абсалямова М.Т., Матвеевская П.А., Цикунов С.Г. 331

АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ВАГИНАЛЬНЫХ ЛАКТОБАЦИЛЛ КАК ФАКТОР КОЛОНИЗАЦИОННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ
Логинова О.П. 332

СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ПРОФИЛАКТИКА РАКА ШЕЙКИ МАТКИ
Логинова О.П., Воропаева А.В. 334

WHONET - ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ЛОКАЛЬНОГО МОНИТОРИНГА АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ
Логинова О.П. 336

ФУКОКСАНТИН КАК ПЕРСПЕКТИВНОЕ СРЕДСТВО С АДАПТОГЕННОЙ И АНТИГИПОКСАНТНОЙ АКТИВНОСТЬЮ
Маклакова И.Ю. 338

ИССЛЕДОВАНИЕ КЛЕТОЧНЫХ МЕХАНИЗМОВ НАРУШЕНИЯ РАЗВИТИЯ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ИНАКТИВАЦИИ ГЕНА CORI1-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА
Медяник А.Д., Целис суэскун Хуан камило, Кондакова Е.В., Тарабыкин В.С. 340

СОДЕРЖАНИЕ

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ СИНТЕЗА
1,3-ДИМЕТИЛИМИДАЗОЛИЙ-4(5)-КАРБОКСИЛАТА –
ИНТЕРМЕДИАТА НОВЫХ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ
РЕПАРАТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ
Милевская А.С., Литасова Е.В. 342

ИНТЕГРАТИВНАЯ ОЦЕНКА МОТОРНЫХ
И ЭМОЦИОНАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ В ТРАНСЛЯЦИОННОЙ
МОДЕЛИ DAT-НОКАУТА У КРЫС
Мирская К.Л., Русановский В.В., Косякова Г.П.,
Соколова Д.П., Суров Д.В. 343

ВЛИЯНИЕ КИССПЕПТИНОВ НА РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ
У ХРОНИЧЕСКИ АЛКОГОЛИЗИРОВАННЫХ САМЦОВ КРЫС
Мосолова С.Н., Костина М.И., Хохлов П.П., Гольц В.А., Бычков Е.Р.,
Лебедев А.А., Байрамов А.А., Шабанов П.Д. 345

КОРРЕКЦИЯ КОМПУЛЬСИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ У КРЫС
С ПОМОЩЬЮ АНТАГОНИСТА OX1R-РЕЦЕПТОРОВ
ОРЕКСИНА В МОДЕЛИ ВИТАЛЬНОГО СТРЕССА
Надбитова Н.Д., Шамаева С.А., Садыкова Д.Р., Сергеева А.Д.,
Орлова Э.Б., Некрасов М.С., Пюрвеев С.С.,
Лебедев А.А., Шабанов П.Д. 346

ЦЕНТРАЛЬНЫЙ И ПЕРИФЕРИЧЕСКИЙ КОМПОНЕНТЫ
ЭНДОГЕННОГО АЛЛОПРЕГНАНОЛОНОВОГО ОТВЕТА У КРЫС
ПОСЛЕ ОСТРОГО ПСИХОТРАВМИРУЮЩЕГО ВОЗДЕЙСТВИЯ
Некрасов М.С., Лебедев А.А., Лебедев В.А., Бычков Е.Р.,
Шабанов П.Д., Деданишвили Н.С., Надбитова Н.Д.,
Балаганский И.А., Глушаков Р.И. 348

АМРА-БЛОКАТОРЫ СНИЖАЮТ КОМПУЛЬСИВНОЕ
ПЕРЕЕДАНИЕ У КРЫС С ПТСР
Нетеса М.А., Лебедев А.А., Потапкин А.М., Анисимов Д.Е.,
Бычков Е.Р., Лебедев В.А., Шабанов П.Д. 350

ВЛИЯНИЕ АМБРОКСОЛА НА ФЕРМЕНТАТИВНУЮ
АКТИВНОСТЬ ЛИЗОСОМНЫХ ГИДРОЛАЗ НА ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИХ
НЕЙРОНАХ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ИПСК ПАЦИЕНТА
С GBA1-АССОЦИИРОВАННОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА
Николаев М.А., Григорьева Е.В., Байдакова Г.В., Павлова С.В.,
Захарова Е.Ю., Копытова А.Э., Пчелина С.Н. 351

СОДЕРЖАНИЕ

ВЫДЕЛЕНИЕ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ, ПРОДУЦИРУЮЩИХ БЕТА-ЛАКТАМАЗЫ РАСШИРЕННОГО СПЕКТРА, ИЗ ПРОБ МОЧИ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ
Новгородцева А.К., Кафтырева Л.А. 353

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ СЕАНСА КОЛЕБАТЕЛЬНОЙ ПОСТУРАЛЬНОЙ НАГРУЗКИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ
Новикова Т.В., Анисимов А.А., Куропатенко М.В. 354

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ФЕНОТИПЫ РЕЗИДЕНТНЫХ МАКРОФАГОВ ЦНС В ПЕРВИЧНЫХ КУЛЬТУРАХ НЕЙРОНОВ ЛЕВОЙ И ПРАВОЙ КОРЫ НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫС: ПРИЖИЗНЕННАЯ МИКРОСКОПИЯ
Новоселова Н.Ю. 356

СОВМЕСТНОЕ ДЕЙСТВИЕ РАЗЛИЧНЫХ КАТИОННЫХ ПОЛИПЕПТИДОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ПРОТИВ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ
Оборин Н.Н., Берлов М.Н., Кренев И.А., Ильюшонок С.К., Бабаков В.Н., Шанин С.Н. 357

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ РИСКИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ И АНТРАЦИКЛИНОВОЙ КАРДИОТОКСИЧНОСТИ
Орлова Н.В., Ильенко Л.И., Тиганова О.А., Карселадзе Н.Д., Бурак М.В. 359

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ АНТИТЕЛО-МЕДНОГО КОНЪЮГАТА НА ОСНОВЕ ТРАСТУЗУМАБА ДЛЯ ТЕРАПИИ HER2-ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК
Отводникова Д.Е., Чернов К.В., Горностаева С.В., Цымбал С.А. 361

ПРЕНАТАЛЬНОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ КОМПОНЕНТОВ ЭЛЕКТРОННЫХ СИГАРЕТ НА ФОРМИРОВАНИЕ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ ПЛОДА
Палаткина П.А., Апраксина Н.К. 362

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ МОДУЛЯЦИЯ РЕЦЕПТОРА СЛЕДОВЫХ АМИНОВ 5 ПРИ КОМПУЛЬСИВНОПОДОБНОМ ПОТРЕБЛЕНИИ ВЫСОКОКАЛОРИЙНОЙ ПИЩИ У КРЫС
Перова А.П., Оберемок А.Ю., Пюрвеев С.С. 363

СОДЕРЖАНИЕ

ФОРМИРОВАНИЕ УСЛОВНОГО РЕФЛЕКСА
В СОСТОЯНИИ УСЛОВНОГО БОДРСТВОВАНИЯ
Пестерева Н.С., Черкассова Р.Д., Сизов В.В. 364

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ
ИННОВАЦИОННОГО ПРЕПАРАТА В СРАВНЕНИИ
С НЕКОТОРЫМИ ДРУГИМИ АНТИМИКОТИКАМИ
В ОТНОШЕНИИ ГРИБОВ РОДА CANDIDA
Петрачкова Е.А., Афиногенова А.Г. 365

РОЛЬ ИММУНОПАТОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ
В ФОРМИРОВАНИИ НЕСТАБИЛЬНОЙ
АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОЙ БЛЯШКИ
Пигаревский П.В., Мальцева С.В., Снегова В.А., Давыдова Н.Г. 367

ДИЗАЙН НОВОГО РЯДА КОНКУРЕНТНЫХ
АНТАГОНИСТОВ NMDA-РЕЦЕПТОРОВ
Поверинова Т.О., Брусина М.А., Литасова Е.В. 369

БАКТЕРИОФАГИ ESCHERICHIA COLI
КАК ВАЖНАЯ СОСТАВЛЯЮЩАЯ КОНЦЕПЦИИ
«ЕДИНОЕ ЗДОРОВЬЕ»
Пунченко Е.В., Пунченко О.Е., Бакланов М.А., Гутцайт Е.Л. 370

НЕЙРОПЕПТИДНЫЕ МЕХАНИЗМЫ
ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ
СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННЫХ
НАРУШЕНИЙ ПОВЕДЕНИЯ
Пюрвеев С.С. 372

КОРРЕКЦИЯ ФЛУОКСЕТИНОМ И МЕТФОРМИНОМ
ПОВЕДЕНЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ У КРЫС ЛИНИИ WISTAR
В МОДЕЛИ ПРЕРЫВИСТОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ
Романовский А.С., Игнатова П.Д., Ереско С.О. 373

НЕЛИНЕЙНАЯ ДИНАМИКА РИТМОВ
КРОВООБРАЩЕНИЯ КАК МАРКЕР
ИЗМЕНЧИВОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО
ДИНАМИЧЕСКОГО ГОМЕОСТАЗА
Рубинский А.В. 374

СОДЕРЖАНИЕ

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОСТРАНСТВА ПРИЗНАКОВ
АРТЕРИАЛЬНОЕ ДАВЛЕНИЕ – УДАРНЫЙ ОБЪЕМ
ДЛЯ АНАЛИЗА ГЕМОДИНАМИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ
Рыжов М.В., Куропатенко М.В., Барсуков М.С. 375

ИССЛЕДОВАТЬ ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА
КАЛИФОРНИЙСКОГО КРАСНОГО ЧЕРВЯ
С ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИМ АКТИВНЫМ ВЕЩЕСТВОМ
«АЗАМЗАР» НА ДЕРМУ (КОЖУ) В КОНТЕКСТЕ
ПРОФИЛАКТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ У ЛЮДЕЙ
Saidaminbek S.M. 377

SAFETY ASSESSMENT OF ENTEROCIN LD3 PURIFIED
FROM A FOOD-GRADE ENTEROCOCCUS HIRAE LD3
Santosh Kumar Tiwari 379

ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ КУМАРИНА НА СОДЕРЖАНИЕ
АДЕНИЛОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ ПРИ ГИПОКСИИ
Селина Е.Н., Каширин А.О., Бычков Е.Р., Крылова И.Б.,
Родионова О.М., Шабанов П.Д. 380

СРАВНЕНИЕ СТЕПЕНИ УСВОЕНИЯ РИТМА
ФОТОСТИМУЛЯЦИИ ЛИЦАМИ С РАЗЛИЧНЫМ
ВЕГЕТАТИВНЫМ ТОНУСОМ
Соколова Е.А., Гусева Н.Л., Кузнецова Ю.А. 382

СОВРЕМЕННЫЕ СТРАТЕГИИ ПРИМЕНЕНИЯ
АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ ДЛЯ ТЕРАПИИ
БАКТЕРИАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ, ВЫЗВАННОЙ
ПОЛИРЕЗИСТЕНТНЫМИ ВОЗБУДИТЕЛЯМИ
Степаненко Д.А. 383

РОЛЬ NLRP3-ИНФЛАММАСОМЫ И ПОЛЯРИЗАЦИИ
МИКРОГЛИИ В ПАТОГЕНЕЗЕ КОГНИТИВНЫХ
НАРУШЕНИЙ ПРИ НЕЙРОВОСПАЛЕНИИ
Степаненко Д.А. 384

ЗАЩИТНЫЙ ЭФФЕКТ АНТИГИПОКСАНТОВ
ПРИ СОВМЕСТНОМ ПЕРЕЖИВАНИИ МЫШАМИ
ОСТРОЙ ГИПОКСИИ
Степанов Д.В., Евсеев А.В., Мосин О.А.,
Евсеева М.А., Сосин Д.В. 385

СОДЕРЖАНИЕ

ADDING GUT MICROBIOME PROFILING
TO CLINICAL RISK ASSESSMENT
Suvorova M.A., Lyudyno V.I. 387

ВЛИЯНИЕ АНТАГОНИСТОВ РЕЦЕПТОРОВ ОРЕКСИНА
НА КОМПУЛЬСИВНОЕ ПОВЕДЕНИЕ КРЫС С НОКАУТОМ
ГЕНА ДОФАМИНОВОГО ТРАНСПОРТЕРА
Суров Д.В., Лебедев А.А., Шабанов П.Д. 388

РОЛЬ БЕЛКОВЫХ КОМПОНЕНТОВ СМЕШАННОЙ СЛЮНЫ
В РЕАЛИЗАЦИИ ЗАЩИТНЫХ МЕХАНИЗМОВ
Сухарева М.С., Владимирова Е.В. 389

ПРИМЕНЕНИЕ ОБОГАЩЕННОГО ТРОМБОЦИТАМИ
ФИБРИНА (PRF) В РЕГЕНЕРАЦИИ ПАРОДОНТАЛЬНЫХ
И ПЕРИИМПЛАНТАТНЫХ МЯГКИХ ТКАНЕЙ
Тулаганова С.Б. 392

ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ФОТОДИНАМИЧЕСКИ-ИНДУЦИРУЕМОЙ
ГИБЕЛИ КЛЕТОК ГЛИОМ ЧЕЛОВЕКА КАК ОСНОВЫ
ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ИММУНОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ
Турубанова В.Д., Слепцова Е.Е., Хузина А.Р.,
Редькин Т.С., Куликов С.С., Клапшина Л.Г.,
Балалаева И.В., Южакова Д.В. 394

ПЕРЕКРЕСТНАЯ СЕНСИБИЛИЗАЦИЯ СЕЗОННОГО
АЛЛЕРГИЧЕСКОГО РИНИТА У ДЕТЕЙ
Тухтаева О.Т. 396

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ МОЛЕКУЛ MICA/B И ULBPS
ОПУХОЛЕВЫМИ КЛЕТКАМИ В ПРИСУТСТВИИ
МЕТАБОЛИТОВ БАКТЕРИЙ
Тыщук Е.В., Денисова Е.А., Гребенкина П.В., Сафина А.Р.,
Моносов М.М., Краева Л.А., Соколов Д.И. 398

КИСЛОРОД-ПРОДУЦИРУЮЩИЕ АНТИГИПОКСАНТЫ, ГЕНЕРАТОРЫ
МЕДИЦИНСКОГО ГАЗА КИСЛОРОДА И ГАЗОВЫЕ ВЗРЫВАТЕЛИ.
ИСТОРИЯ РАЗРАБОТКИ ИХ В РОССИИ, РЕЗУЛЬТАТЫ ПЕРВЫХ
ЭКСПЕРИМЕНТОВ ПЕРСПЕКТИВЫ
А.Л. УРАКОВ, Н.А.УРАКОВА, П.Д. ШАБАНОВ
Ураков А.Л., Уракова Н.А., Шабанов П.Д. 400

СОДЕРЖАНИЕ

ОТДАЛЕННЫЕ ПОСЛЕДСТВИЯ ВЛИЯНИЯ ДЛИТЕЛЬНОГО ЭМОЦИОНАЛЬНО-БОЛЕВОГО СТРЕССА НА УРОВЕНЬ ТРЕВОЖНОСТИ САМЦОВ И САМОК КРЫС С КОНТРАСТНОЙ ВОЗБУДИМОСТЬЮ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ
Фалеева В.С. 404

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КИШЕЧНОГО МИКРОБИОМА И ИММУННОЙ СИСТЕМЫ В ОБЕСПЕЧЕНИИ ГОМЕОСТАЗА
Хаджаева Д.Х., Ахрорходжаев К.А. 405

РОЛЬ МИКРОБИОМА КИШЕЧНИКА В ПАТОГЕНЕЗЕ И ТЕРАПИИ ГЛОБАЛЬНЫХ ПАНДЕМИЙ: ОТ COVID-19 ДО АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ
Хаджаева Д.Х., Ахрорходжаев К.А. 406

КОРОТКОЦЕПОЧЕЧНЫЕ ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ КАК МЕДИАТОРЫ ИММУНОМЕТАБОЛИЧЕСКОГО ГОМЕОСТАЗА: РОЛЬ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ
Холкузиева Р.Х., Серебряков В.В. 407

ОЦЕНКА ШТАММА S. PYOGENES GURSA1 КАК ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ОНКОЛИТИЧЕСКОГО АГЕНТА: ДОЗОЗАВИСИМЫЙ ЭФФЕКТ И ПРОФИЛЬ БЕЗОПАСНОСТИ НА МОДЕЛИ ПАНКРЕАТИЧЕСКОЙ АДЕНОКАРЦИНОМЫ
Цапиева А.Н., Дуплик Н.В., Морозова А.О., Филатенкова Т.А., Каранина В.Д., Егидарова Е.Ю., Суворов А.Н. 408

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ГИППОКАМПА У САМОК КРЫС, ПЕРЕЖИВШИХ ВИТАЛЬНЫЙ СТРЕСС
Частикова А.Е., Апраксина Н.К., Безнин Г.В., Коржевский Д.Э., Цикунов С.Г. 409

ЭФФЕКТЫ ПРОТЕГРИНА-1 И КАТЕЛИЦИДИНА LL-37 НА МОДЕЛЯХ IN VITRO И IN VIVO
Чернов А.Н., Филатенкова Т.А., Асиеду-Баах Н., Бацуури У., Иванов С.Д., Шамова О.В. 411

СОДЕРЖАНИЕ

МОДЕЛИРОВАНИЕ ГИДРОДИНАМИЧЕСКОГО ПРИСТЕНОЧНОГО НАПРЯЖЕНИЯ СДВИГА НА КУЛЬТУРЕ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОРБИТАЛЬНОГО ШЕЙКЕРА
Чураков Г.А., Орлов С.В., Салль Т.С., Гатаулин Я.А., Юхнев А.Д., Иванов Н.А. 414

ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИКА НА ОСНОВЕ BIFIDOBACTERIUM ADOLESCENTIS И LACTOBACILLUS PLANTARUM И ДЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА СТРУКТУРУ МИКРОБИОТЫ И ПОВЕДЕНИЕ КРЫС ЛИНИЙ С РАЗЛИЧНОЙ ВОЗБУДИМОСТЬЮ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ
Шалагинова И.Г., Вылегжанина А.Э., Кацеров Д.С. 415

ВАЛИДАЦИЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ АДЕНОМИОЗА НА КРЫСАХ ЛИНИИ WISTAR
Шалина Я.А., Пюрвеев С.С., Лебедев А.А., Шабанов П.Д. 417

ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ MIR-29C-3P В ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЕ И ГИПОТАЛАМУСЕ У САМОК КРЫС В МОДЕЛИ КОМПУЛЬСИВНОГО ПЕРЕЕДАНИЯ
Шамаева С.А., Надбитова Н.Д., Шабанов П.Д. 419

UNIVERSAL OPERATOR OR CONTEXT-DEPENDENT ORCHESTRATOR? IVERMECTIN, PURINERGIC SIGNALING, AND THE MICROBIOTA-MEDIATED ONCOLOGICAL PHENOTYPE IN 2026
Sharygina K., Baryshnikova N. 420

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЯ НАКОПЛЕНИЯ СВИНЦА В БИОСРЕДАХ ПРИ ОСТРЫХ ИНТОКСИКАЦИЯХ У КРЫС
Шемаев М.Е., Рейнюк В.Л., Мельникова М.В., Вариошкин П.Н., Лапина Н.В., Коростелев М.Ю. 421

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНОЙ АНЕМИИ У БЕРЕМЕННЫХ И ЕЕ ВЛИЯНИЕ НА ТЕЧЕНИЕ БЕРЕМЕННОСТИ
Эшкулова Г.А. 423

СОДЕРЖАНИЕ

ФАКТОРЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ РЕПРОДУКТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ЖЕНЩИНЫ: ВЛИЯНИЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПОДРОСТКОВОГО ПЕРИОДА, ОБРАЗА ЖИЗНИ, СТРЕССА И ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ
Юсупова З.Д. 424

ВЛИЯНИЕ НОВОГО NMDA-ЛИГАНДА НА ЭКСПРЕССИЮ СУБЪЕДИНИЦ ГЛУТАМАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ У КРЫС
Яковлева Е.Е., Ситдикова К.К., Яковлева В.Г., Бычков Е.Р., Шабанов П.Д. 426

АНАЛЬГЕТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО ИМИДАЗОЛ-4,5-ДИКАРБОНОВОЙ КИСЛОТЫ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛИ У КРЫС
Яковлева Е.Е., Камалова М.Т.К., Смалайкина А.А., Яковлева В.Г., Брусина М.А., Бычков Е.Р., Шабанов П.Д. 428

НАУЧНО-ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЙ ФОРУМ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ «ИНИЦИАТИВНЫЕ. ЭНЕРГИЧНЫЕ. МОЛОДЫЕ!»

НЕЙРОСЕТЕВОЙ АНАЛИЗ ЭХОГРАФИЧЕСКИХ ИЗОБРАЖЕНИЙ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ ПЛОДА. ОБЗОР ВОЗМОЖНОСТЕЙ РАЗРАБОТАННОЙ ТЕХНОЛОГИИ ИСКУССТВЕННОГО ИНТЕЛЛЕКТА
Арутюнян Е.А. 431

ЗА ПРЕДЕЛАМИ СТЕНОЗА: ИНТЕГРАЦИЯ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ МСКТ-КОРОНАРОГРАФИИ И ДИНАМИЧЕСКОЙ ОФЭКТ В ФЕНОТИПИРОВАНИИ СТАБИЛЬНОЙ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА
Дашеева А.С. 440

ОСОБЕННОСТИ СОПРЯЖЁННОСТИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО И МЕМБРАННОГО МЕТАБОЛИЗМА В ГЛИОМАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПО ДАННЫМ ФОСФОРНОЙ МР-СПЕКТРОСКОПИИ
Елагина Н.Е. 447

СОДЕРЖАНИЕ

СРАВНЕНИЕ ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ТОЧНОСТИ БИПАРАМЕТРИЧЕСКОЙ И МУЛЬТИПАРАМЕТРИЧЕСКОЙ МРТ ПРЕДСАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ОТНОСИТЕЛЬНО ДАННЫХ ФЬЮЖН БИОПСИИ
Заводова А.А. 452

ПРЕИМУЩЕСТВА 3D-МОДЕЛИРОВАНИЯ ПОЛОСТЕЙ СЕРДЦА ПО ДАННЫМ КТА У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА НА ПРИМЕРЕ АТРЕЗИИ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ
Кобелев Е. 457

ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТЕЙ 3D SLICER ПРИ ПРЕДОПЕРАЦИОННОЙ РАЗМЕТКЕ
Лобанов И.С. 462

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА ТИПОВ ГЕПАТОПУЛЬМОНАЛЬНОГО СИНДРОМА ПО ДАННЫМ ПРОТОННОЙ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ КОМПЛЕКСА «СЕЛЕЗЕНКА–ПОЧКИ»
Ореховская А.Г. 466

ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СЕТЕЙ В ОСТРЕЙШЕЙ ФАЗЕ ИНСУЛЬТА ПРИ ПОМОЩИ ФМРТ
Проняева К.А., Станкевич Ю.А., Петровский Е.Д., Тулупов А.А. 472

ПРЕДИКТИВНОЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ НАКОПЛЕНИЯ ПРЕПАРАТА [^{99м}Tc]Tc-ADAPT6 В ОПУХОЛИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
Романова А.А., Брагина О.Д., Таширева Л.А. 477

ВОЗМОЖНОСТИ ASL-ПЕРФУЗИИ В ОЦЕНКЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПОЧЕЧНОГО РЕЗЕРВА
Сюрина С.А. 483

КТ-ОЦЕНКА КАРОТИДНЫХ ПАРАГАНГЛИОМ ДЛЯ ПЛАНИРОВАНИЯ ХИРУРГИЧЕСКОГО ВМЕШАТЕЛЬСТВА
Тамаева С.М. 486

СОДЕРЖАНИЕ

КТ- И МРТ-ОЦЕНКА СТРУКТУРЫ НЕКРОТИЧЕСКИХ СКОПЛЕНИЙ КАК КРИТЕРИЙ ВЫБОРА ЛЕЧЕБНОЙ ТАКТИКИ ПРИ ДЕСТРУКТИВНОМ ПАНКРЕАТИТЕ
Титов М.Ю. 492

ВЛИЯНИЕ ПОДТИПОВ ЭМФИЗЕМЫ НА ПЛОТНОСТНЫЕ И ОБЪЕМНЫЕ ПАРАМЕТРЫ ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ ПО ДАННЫМ КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА КОМПЬЮТЕРНЫХ ТОМОГРАММ У ЛИЦ С ФАКТОРАМИ РИСКА ХОБЛ
Устинова В.М. 499

ДИНАМИЧЕСКАЯ ОФЭКТ МИОКАРДА В ОЦЕНКЕ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНЫХ НАРУШЕНИЙ У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА И НЕОБСТРУКТИВНЫМ ПОРАЖЕНИЕМ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ
Цыгикало А.А. 504

ТРЕПАН- БИОПСИЯ ПОД УЗ- НАВИГАЦИЕЙ В ДИАГНОСТИКЕ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
Якушева А.С. 512