

ВЕСТНИК РОССИЙСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

НАУЧНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЖУРНАЛ РНИМУ ИМ. Н. И. ПИРОГОВА

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР Денис Ребриков, д. б. н., профессор

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА Александр Эттингер, д. м. н., профессор

РЕДАКТОРЫ Валентина Гейдебрехт, к. б. н.; Надежда Тихомирова

ТЕХНИЧЕСКИЙ РЕДАКТОР Евгений Лукьянов

ПЕРЕВОДЧИКИ Надежда Тихомирова, Вячеслав Витюк

ДИЗАЙН И ВЕРСТКА Марины Дорониной



ПОДАЧА РУКОПИСЕЙ

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

В. И. Аверин, д. м. н., профессор (Минск, Белоруссия)
М. Азизоглу, MD PhD (Стамбул, Турция)
Н. Н. Алипов, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
В. В. Белоусов, д. б. н., профессор (Москва, Россия)
В. К. Боженко, д. м. н., к. б. н., профессор (Москва, Россия)
Н. А. Былова, к. м. н., доцент (Москва, Россия)
Р. Р. Гайнетдинов, к. м. н. (Санкт-Петербург, Россия)
Г. Е. Гендлин, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
Е. К. Гинтер, академик РАН, д. б. н. (Москва, Россия)
Л. Р. Горбачева, д. б. н., профессор (Москва, Россия)
И. Г. Гордеев, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
А. В. Гудков, PhD, DSc (Буффало, США)
Н. В. Гуляева, д. б. н., профессор (Москва, Россия)
Е. И. Гусев, академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
В. Н. Даниленко, д. б. н., профессор (Москва, Россия)
Т. В. Зарубина, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
И. И. Затевахин, академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
В. Е. Каган, профессор (Питтсбург, США)
Ю. Г. Кжышковска, д. б. н., профессор (Гейдельберг, Германия)
Б. А. Кобринский, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
А. В. Козлов, MD PhD (Вена, Австрия)
Ю. В. Котелевцев, к. х. н. (Москва, Россия)
М. А. Лебедев, PhD (Дарем, США)
Н. Е. Мантурова, д. м. н. (Москва, Россия)
О. Ю. Милушкина, д. м. н., доцент (Москва, Россия)
З. Б. Митупов, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
С. А. Мошковский, д. б. н., профессор (Москва, Россия)
Д. Б. Мунблит, MSc, PhD (Лондон, Великобритания)

В. В. Негребецкий, д. х. н., профессор (Москва, Россия)
А. А. Новиков, д. б. н. (Москва, Россия)
Ю. П. Пивоваров, д. м. н., академик РАН, профессор (Москва, Россия)
Н. В. Полунина, член-корр. РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
Г. В. Порядин, член-корр. РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
А. Ю. Разумовский, член-корр. РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
О. Ю. Реброва, д. м. н. (Москва, Россия)
А. С. Рудой, д. м. н., профессор (Минск, Белоруссия)
А. К. Рылова, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
В. Ф. Семиглазов, член-корр. РАН, д. м. н., профессор (Санкт-Петербург, Россия)
Н. А. Скоблина, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
Т. А. Славянская, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
В. М. Смирнов, д. б. н., профессор (Москва, Россия)
А. Спаллоне, д. м. н., профессор (Рим, Италия)
В. И. Стародубов, академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
В. А. Степанов, член-корр. РАН, д. б. н., профессор (Томск, Россия)
С. В. Сучков, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
Х. П. Тахчиди, академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
Г. Е. Труфанов, д. м. н., профессор (Санкт-Петербург, Россия)
У. Н. Туманова, д. м. н. (Москва, Россия)
О. О. Фаворова, д. б. н., профессор (Москва, Россия)
М. Л. Филипенко, к. б. н. (Новосибирск, Россия)
Р. Н. Хазипов, д. м. н. (Марсель, Франция)
М. А. Чундокова, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
Н. Л. Шимановский, член-корр. РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
Л. Н. Шишкина, д. б. н. (Новосибирск, Россия)
А. И. Щеголев, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
Р. И. Якубовская, д. б. н., профессор (Москва, Россия)

ПОДАЧА РУКОПИСЕЙ <https://vestnik.rsmu.press/login?lang=ru>

ПЕРЕПИСКА С РЕДАКЦИЕЙ editor@vestnikrgmu.ru

СОТРУДНИЧЕСТВО manager@vestnikrgmu.ru

АДРЕС РЕДАКЦИИ ул. Островитянова, д. 1, г. Москва, 117997

Журнал включен в Scopus. CiteScore 2023: 0,8

Журнал включен в WoS. JCR 2021: 0,5

Индекс Хирша (h²) журнала по оценке Google Scholar: 10

Scopus®

WEB OF SCIENCE™

Google
scholar

SCImago Journal & Country Rank 2020: 0,14

Журнал включен в Перечень 31.12.2023 (№ 44) приказом
Минобрнауки России от 31.05.2023 № 534

Здесь находится открытый архив журнала

SJR
Scimago Journal & Country Rank



ВЫСШАЯ
АТТЕСТАЦИОННАЯ
КОМИССИЯ (ВАК)

CYBERLENINKA

DOI выпуска: 10.24075/vrgmu.2025-04

Свидетельство о регистрации средства массовой информации № 012769 от 29 июля 1994 г.

ISSN (Print): 2500-1094, ISSN (Online): 2542-1204.

Учредитель и издатель — Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова (Москва, Россия).

Журнал индексируется в научных базах Scopus, Web of Science, Google Scholar, SJR, DOAJ, Scilit,

CyberLeninka, Embase, EZB, Lens.org, MTLibraries, OpenAlex, Research4Life, Scholia, Wikidata, ZDB.

Журнал распространяется по лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (www.creativecommons.org).



Подписано в печать 31.08.2025

Тираж 100 экз. Отпечатано в типографии PrintFormula

www.print-formula.ru

BULLETIN OF RUSSIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

BIOMEDICAL JOURNAL OF PIROGOV RUSSIAN NATIONAL RESEARCH MEDICAL UNIVERSITY

EDITOR-IN-CHIEF Denis Rebrikov, DSc, professor

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF Alexander Oettinger, DSc, professor

EDITORS Valentina Geidebrekht, PhD; Nadezda Tikhomirova

TECHNICAL EDITOR Evgeny Lukyanov

TRANSLATORS Nadezda Tikhomirova, Vyacheslav Vityuk

DESIGN AND LAYOUT Marina Doronina



SUBMISSION

EDITORIAL BOARD

Averin VI, DSc, professor (Minsk, Belarus)
Azizoglu M, MD PhD (Istanbul, Turkey)
Alipov NN, DSc, professor (Moscow, Russia)
Belousov VV, DSc, professor (Moscow, Russia)
Bozhenko VK, DSc, CSc, professor (Moscow, Russia)
Bylova NA, CSc, docent (Moscow, Russia)
Gainetdinov RR, CSc (Saint-Petersburg, Russia)
Gendlin GYe, DSc, professor (Moscow, Russia)
Ginter EK, member of RAS, DSc (Moscow, Russia)
Gorbacheva LR, DSc, professor (Moscow, Russia)
Gordeev IG, DSc, professor (Moscow, Russia)
Gudkov AV, PhD, DSc (Buffalo, USA)
Gulyaeva NV, DSc, professor (Moscow, Russia)
Gusev EI, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Danilenko VN, DSc, professor (Moscow, Russia)
Zarubina TV, DSc, professor (Moscow, Russia)
Zatevakhin II, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Kagan VE, professor (Pittsburgh, USA)
Kzyshkowska YuG, DSc, professor (Heidelberg, Germany)
Kobinskii BA, DSc, professor (Moscow, Russia)
Kozlov AV, MD PhD, (Vienna, Austria)
Kotelevtsev YuV, CSc (Moscow, Russia)
Lebedev MA, PhD (Darem, USA)
Manturova NE, DSc (Moscow, Russia)
Milushkina OYu, DSc, professor (Moscow, Russia)
Mitupov ZB, DSc, professor (Moscow, Russia)
Moshkovskii SA, DSc, professor (Moscow, Russia)
Munblit DB, MSc, PhD (London, Great Britain)

Negrebetsky VV, DSc, professor (Moscow, Russia)
Novikov AA, DSc (Moscow, Russia)
Pivovarov YuP, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Polunina NV, corr. member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Poryadin GV, corr. member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Razumovskii AYU, corr. member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Rebrova OYu, DSc (Moscow, Russia)
Rudoy AS, DSc, professor (Minsk, Belarus)
Rylova AK, DSc, professor (Moscow, Russia)
Semiglazov VF, corr. member of RAS, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)
Skoblina NA, DSc, professor (Moscow, Russia)
Slavyanskaya TA, DSc, professor (Moscow, Russia)
Smirnov VM, DSc, professor (Moscow, Russia)
Spallone A, DSc, professor (Rome, Italy)
Starodubov VI, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Stepanov VA, corr. member of RAS, DSc, professor (Tomsk, Russia)
Suchkov SV, DSc, professor (Moscow, Russia)
Takhchidi KhP, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Trufanov GE, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)
Tumanova UN, MD (Moscow, Russia)
Favorova OO, DSc, professor (Moscow, Russia)
Filipenko ML, CSc, leading researcher (Novosibirsk, Russia)
Khazipov RN, DSc (Marsel, France)
Chundukova MA, DSc, professor (Moscow, Russia)
Schegolev AI, MD, professor (Moscow, Russia)
Shimanovskii NL, corr. member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Shishkina LN, DSc, senior researcher (Novosibirsk, Russia)
Yakubovskaya RI, DSc, professor (Moscow, Russia)

SUBMISSION <http://vestnik.rsmu.press/login?lang=en>

CORRESPONDENCE editor@rsmu.press

COLLABORATION manager@vestnikrgmu.ru

ADDRESS ul. Ostrovityanova, d. 1, Moscow, Russia, 117997

Indexed in Scopus. CiteScore 2023: 0,8

Indexed in WoS. JCR 2021: 0.5

Five-year h-index is 10



SCImago Journal & Country Rank 2020: 0.14

Listed in HAC 31.12.2023 (No. 44) by the order of the Ministry
of Science and Higher Education of the Russian Federation
from 31.05.2023 No. 534

Open access to archive



ВЫСШАЯ
АТТЕСТАЦИОННАЯ
КОМИССИЯ (ВАК)



Issue DOI: 10.24075/brsmu.2025-04

Mass media registration certificate No. 012769, issued on July 29, 1994.

ISSN (Print): 2500-1094, ISSN (Online): 2542-1204.

Founder and publisher: Pirogov Russian National Research Medical University (Moscow, Russia).

The journal is indexed in the following scientific databases: Scopus, Web of Science, Google Scholar, SJR, DOAJ, Scilit, CyberLeninka, Embase, EZB, Lens.org, MIT Libraries, OpenAlex, Research4Life, Scholia, Wikidata, and ZDB.

The journal is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (www.creativecommons.org).



Approved for print 31.08.2025
Circulation: 100 copies. Printed by PrintFormula
www.print-formula.ru

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

4

Связь устойчивых сочетаний слюварных катехоламинов с организацией церебральных функций у больных хронической ишемией мозга
В. Ф. Фокин, Д. А. Абаимов, Н. В. Пономарева, Р. Б. Медведев, Р. Н. Коновалов, О. В. Лагода, М. В. Кротенкова, А. А. Шабалина, М. М. Танашян
Relationship of stable combinations of salivary catecholamines with cerebral function organization in patients with chronic cerebral ischemia
Fokin VF, Abaimov DA, Ponomareva NV, Medvedev RB, Kononov RN, Lagoda OV, Krotchenkova MV, Shabalina AA, Tanashyan MM

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

12

Эффективность применения мелатонина per rectum при экспериментальной острой ишемии головного мозга
М. В. Осиков, А. В. Шеломенцев, М. С. Бойко, Ю. С. Шишкова, А. А. Федосов
Efficacy of using melatonin per rectum for experimental acute cerebral ischemia
Osikov MV, Shelomentsev AV, Boyko MS, Shishkova YuS, Fedosov AA

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

18

Сравнение эффективности мРНК вакцин против *M. tuberculosis* на основе линейных и кольцевых РНК
А. С. Киршина, Г. С. Шепелькова, А. С. Хлебникова, А. А. Маслов, А. В. Козлова, Д. А. Кунык, В. В. Еремеев, Р. А. Иванов, В. В. Решетников
Comparison of the efficacy of mRNA vaccines against *M. tuberculosis* based on linear and circular RNAs
Kirshina AS, Shepelkova GS, Khlebnikova AS, Maslov AA, Kozlova AV, Kunyk DA, Yermeev VV, Ivanov RA, Reshetnikov VV

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

26

Микробиологический анализ и идентификация патогенов во время ортопедических операций: исследование в г. Эн-Насирия
Карим Аль-Зиркан
Microbiological analysis and identification of pathogens in orthopedic theatres: Al-Nassiriyah city's study
Kareem Al-Zirkan

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

34

Иммунорегуляторный индекс как ВИЧ-ассоциированный фактор прогноза течения и исхода рака легкого
П. С. Гаврилов, С. И. Кутукова, Д. А. Полежаев, В. Г. Пищик, Г. М. Манихас
CD4/CD8 ratio as a HIV-associated factor of the lung cancer course and outcome prognosis
Gavrilov PS, Kutukova SI, Polezhaev DA, Pishchik VG, Manikhas GM

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

43

Определение фенотипа старения по изменению спонтанной и индуцированной продукции интерлейкина-6 и интерлейкина-10 *in vitro*
В. В. Греченко, Т. В. Громова, А. Д. Огурцова, Т. Г. Мурадян, Э. Р. Журавлева, Л. В. Ганковская
Determination of aging phenotype based on the changes in spontaneous and induced interleukin-6 and interleukin-10 production *in vitro*
Grechenko VV, Gromova TV, Ogurtsova AD, Muradyan TG, Zhuravleva ER, Gankovskaya LV

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

50

Сравнительная фармакокинетика и биораспределение пептидов HAEE и HASS
А. В. Иванова, П. А. Лазарева, И. А. Кузьмичев, В. В. Вадехина, А. В. Косых, Н. Г. Гурская, М. А. Абакумов
Comparative pharmacokinetics and biodistribution of HAEE and HASS peptides
Ivanova AV, Lazareva PA, Kuzmichev IA, Vadekhina VV, Kosykh AV, Gurskaya NG, Abakumov MA

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

57

Динамика мозгового натрийуретического пептида и кортикостерона при экспериментальной хронической сердечной недостаточности на фоне физических нагрузок
Т. И. Джандарова, М. О. Табунщикова, С. И. Кубанов, Д. А. Доменюк
Brain natriuretic peptide and corticosterone dynamics in experimental chronic heart failure during physical activity
Dzhandarova TI, Tabunshchikova MO, Kubanov SI, Domenyuk DA

СВЯЗЬ УСТОЙЧИВЫХ СОЧЕТАНИЙ САЛИВАРНЫХ КАТЕХОЛАМИНОВ С ОРГАНИЗАЦИЕЙ ЦЕРЕБРАЛЬНЫХ ФУНКЦИЙ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИЕЙ МОЗГА

В. Ф. Фокин ✉, Д. А. Абаимов, Н. В. Пономарева, Р. Б. Медведев, Р. Н. Коновалов, О. В. Лагода, М. В. Кротенкова, А. А. Шабалина, М. М. Танашян

Российский научный центр неврологии и нейронаук, Москва, Россия

Исследование роли катехоламинов (КА) в церебральной организации функций у больных хронической ишемией мозга (ХИМ) актуально, поскольку известна их значительная роль как нейромедиаторов, а также связь с уровнем стресса и кортизолом. Целью работы было изучить влияние устойчивых сочетаний дофамина (ДА), норадреналина (НА) и адреналина (АДР) на организацию церебральных функций. Исследование выполнено на 76 больных ХИМ, с использованием данных фМРТ ($n = 21$), которые с помощью программ SPM-12 и CONN-18 преобразовывали в сетевую структуру. Оценку уровня значимости проводили с учетом множественности сравнений. Стабильные комбинации КА, отражающие взаимную положительную корреляцию ДА, НА и АДР, существенно влияли на церебральную организацию больных ХИМ. Комбинации КА были связаны с показателями слюнного кортизола ($F = 4,8$; $p = 0,038$) и памяти ($F = 7,5$; $p = 0,011$): повышение КА было ассоциировано с повышением кортизола и ухудшением показателей памяти. По данным фМРТ найдены различия в коннективной организации больных ХИМ с высоким и низким уровнем всех трех КА. Для пациентов с содержанием КА ниже значения медианы характерно наличие замкнутых нейронных сетей, распространяющихся на оба полушария головного мозга, что способствует интеграции и сохранению информации. Предполагается, что такие сети могут иметь связь с механизмами долговременной потенциации, играющими важную роль в процессах памяти и изменениями силы синаптической связи. Таким образом, использование неинвазивных методов биохимического анализа, а также фМРТ позволило получить новые данные о кольцевой организации нейросетей мозга, связанной с устойчивыми комбинациями КА. Подобная организация нейросетей, по-видимому, влияет на когнитивные функции. Высокий уровень катехоламинов у больных ХИМ связан с повышением уровня кортизола и ухудшением памяти и снижением коннективности нейросетей мозга.

Ключевые слова: катехоламины, дофамин, норадреналин, адреналин, хроническая ишемия мозга, церебральные функции, коннективности, фМРТ, нейросети

Вклад авторов: В. Ф. Фокин — написание статьи; Д. А. Абаимов — проведение биохимических исследований; Н. В. Пономарева — дизайн физиологических и нейропсихологических исследований, общий дизайн работы; Р. Б. Медведев — доплерографические и клинические исследования; Р. Н. Коновалов — дизайн нейровизуализационных исследований; О. В. Лагода — клинические исследования; М. В. Кротенкова — руководство нейровизуализационными исследованиями; А. А. Шабалина — дизайн биохимических исследований; М. М. Танашян — руководство клиническими исследованиями, общий дизайн работы.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено локальным этическим комитетом Российского центра неврологии и нейронаук (протокол No 5-6/22 от 1 июня 2022 г.). Все участники обследований подписали добровольное информированное согласие.

✉ **Для корреспонденции:** Виталий Федорович Фокин
Волоколамское шоссе, д. 80, Москва, 125367, Россия; fvf@mail.ru

Статья получена: 29.07.2025 **Статья принята к печати:** 13.08.2025 **Опубликована онлайн:** 21.08.2025

DOI: 10.24075/vrgmu.2025.038

Авторские права: © 2025 принадлежат авторам. **Лицензиат:** РНИМУ им. Н. И. Пирогова. Статья размещена в открытом доступе и распространяется на условиях лицензии Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

RELATIONSHIP OF STABLE COMBINATIONS OF SALIVARY CATECHOLAMINES WITH CEREBRAL FUNCTION ORGANIZATION IN PATIENTS WITH CHRONIC CEREBRAL ISCHEMIA

Fokin VF ✉, Abaimov DA, Ponomareva NV, Medvedev RB, Konovalov RN, Lagoda OV, Krotchenkova MV, Shabalina AA, Tanashyan MM

Research Center of Neurology, Moscow, Russia

The study of the role of catecholamines (CAs) in cerebral organization of functions in patients with chronic cerebral ischemia (CCI) is relevant, since their important role as neurotransmitters is well known, along with the association with stress severity and cortisol. The study aimed to assess the impact of stable combinations of dopamine (DA), norepinephrine (NA), and adrenaline (ADR) on the organization of cerebral functions. A total of 76 patients with CCI were assessed based on the fMRI data ($n = 21$) converted into a network structure using the SPM-12 and CONN-18 software tools. Significance level estimation involved adjustment for multiple comparisons. Stable combinations of CAs reflecting mutual positive correlation of DA, NA and BP significantly affected cerebral organization of patients with CCI. CA combinations were associated with salivary cortisol ($F = 4.8$; $p = 0.038$) and memory ($F = 7.5$; $p = 0.011$) indices: the CA level increase was associated with increased cortisol levels and worse memory indices. Based on fMRI data the differences were revealed in connectivity organization of CCI patients with high and low levels of all three CAs. Patients with the CA content below median are characterized by the presence of closed neural networks extending to both brain hemispheres, which contributes to information integration and retention. It is assumed that such networks may be associated with the long-term potentiation mechanisms playing an important role in memory processes and changes in the synaptic connection strength. Thus, the use of non-invasive biochemistry testing methods and fMRI has made it possible to obtain new data on the ring organization of brain neural networks associated with stable CA combinations. Such neural network organization is likely to affect cognitive functions. High catecholamine levels in CCI patients are associated with increased cortisol levels, memory deterioration, and decreased connectivity in neural network of the brain.

Keywords: catecholamines, dopamine, norepinephrine, adrenaline, chronic cerebral ischemia, cerebral functions, connectivities, fMRI, neural networks

Author contribution: Fokin VF — manuscript writing; Abaimov DA — biochemistry testing; Ponomareva NV — physiological and neuropsychological testing design, general study design; Medvedev RB — Doppler tests and clinical assessment; Konovalov RN — brain imaging testing design; Lagoda OV — clinical assessment; Krotchenkova MV — brain imaging testing management; Shabalina AA — biochemistry testing design; Tanashyan MM — clinical assessment management, general study design.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Research Center of Neurology (protocol No. 5-6/22 dated 1 June 2022). The informed consent was submitted by all study participants.

✉ **Correspondence should be addressed:** Vitaly F. Fokin
Volokolamskoye shosse 80, Moscow, 125367, Russia; fvf@mail.ru

Received: 29.07.2025 **Accepted:** 13.08.2025 **Published online:** 21.08.2025

DOI: 10.24075/brsmu.2025.038

Copyright: © 2025 by the authors. **Licensee:** Pirogov University. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Катехоламины (КА) — это группа биоактивных веществ, которые играют значительную, иногда ключевую, роль в регуляции различных физиологических процессов в организме. Они относятся к классу моноаминов и включают три основных соединения: дофамин (ДА), норадреналин (НА) и адреналин (АДР). Все КА синтезируются из аминокислоты тирозина. Последовательность их синтеза: тирозин — диоксифенилаланин (ДОФА) — дофамин — норадреналин — адреналин. КА вырабатываются в основном надпочечниками, а также в нейронах центральной и периферической нервной системы. Указанный выше путь синтеза КА называют классическим или главным путем синтеза КА. Неклассические пути синтеза, например из микробиома, недостаточны, чтобы существенно повлиять на содержание КА в мозге или организме в целом.

Общие функции КА включают регуляцию настроения и эмоционального состояния. Дофамин часто ассоциируется с ощущением удовольствия и вознаграждения. НА и АДР являются центральными компонентами стрессовой реакции. Они изменяют сердечный выброс и частоту сердечных сокращений, способствуют расширению кровеносных сосудов в определенных областях [1].

Функции КА связаны с их молекулярной организацией: ДА действует преимущественно на дофаминовые рецепторы, влияя на функции движения, внимание и мотивацию. ДА влияет на функции, связанные с вознаграждением, настроением и движением, играя роль в контроле моторики.

НА задействован в стрессовых реакциях, востребован при повышении внимания и бдительности. Он воздействует на альфа- и бета-адренорецепторы, способствуя повышению артериального давления, увеличению частоты сердечных сокращений и улучшению концентрации внимания. АДР включает расширение бронхов, увеличение глюкозы в крови и усиление метаболической активности. АДР отвечает за реакцию на острые стрессовые ситуации, обеспечивая быстрое увеличение физической активности (учащение сердцебиения, повышение артериального давления и увеличение потока крови к мышцам). Еще один важный аспект, обусловленный общим происхождением КА — это отсутствие отрицательных корреляций между отдельными КА, а также тирозином. Некоторые непрямые методы отрицательного регулирования были обнаружены, например, из-за конкуренции за общие рецепторы, но роль подобного регулирования невелика. Из-за таких особенностей метаболизма КА следует наличие между ДА, НА и АДР преимущественно положительных корреляций [1, 2].

Уровни катехоламинов в слюне могут варьировать в зависимости от различных факторов, таких как время суток, состояние здоровья, наличие стресса и метод сбора образцов. Определенную роль играет методика определения содержания КА. По литературным данным разных авторов содержание КА варьировало от единиц пг/мл до десятков нг/мл [3–5]. Из-за высокой вариабельности слюнных КА кажется целесообразным рассматривать их относительные, главным образом, качественные, но не количественные показатели.

Катехоламины легко обнаруживаются в человеческой слюне, но их происхождение до конца неясно. В большинстве работ говорится, что КА поступают в слюнные железы из кровяного русла. Показано, что некоторые КА, например НА, присутствующий в слюне человека, поступает как из кровотока, так и из симпатических нервов слюнных желез [5].

Общий источник КА позволяет предусматривать возможность их взаимной обусловленности. Однако

сопряженное влияние катехоламинов на работу головного мозга до сих пор исследовано недостаточно. При взаимной корреляции отдельных КА, обусловленных, в частности, их общим происхождением, могут наблюдаться синхронизированные изменения КА [6]. В связи с этим целью настоящей работы было рассмотреть влияние комбинаций слюнных КА на коннективность нейросетей мозга, показатели памяти и уровень кортизола, когда количество всех трех КА выше или ниже их медианного уровня у больных с хронической ишемией мозга (ХИМ) — заболеванием, характеризующимся хроническим нарушением мозгового кровообращения и связанными с этим диффузными или очаговыми изменениями в мозге, а также с когнитивными и неврологическими расстройствами. Диагноз ХИМ основывается на комплексной оценке клинических, инструментальных и нейропсихологических данных [7–10], подробнее см. в разделе «Пациенты и методы».

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследовании участвовали 76 больных ХИМ (42 женщины и 34 мужчины в возрасте 58–82 года). Оценивали содержание катехоламинов: ДА, НА, АДР в слюне. Больные отличались друг от друга, в основном, по количественным характеристикам нарушения памяти, работоспособности, раздражительности, проявлений стволовой симптоматики и т. д. Основные этиологические причины ХИМ: атеросклероз, артериальная гипертензия (включая гипертоническую болезнь), венозная недостаточность, диабетическая ангиопатия, васкулиты различной этиологии, заболевания крови и др. Критерии включения: стадия начальных проявлений и субкомпенсации ХИМ; отсутствие необходимости в повседневной жизни в постоянной опеке со стороны окружающих. Критерии исключения: деменция выраженностью 1 балл и более по клинически-рейтинговой шкале деменции [11]; наличие в анамнезе острых нарушений мозгового кровообращения, черепно-мозговых травм, тяжелой кардиальной, метаболической патологии (сахарный диабет 2-го типа); почечная недостаточность, некомпенсированные нарушения функций щитовидной железы. Все пациенты были правшами.

Диагноз ХИМ основывался на комплексной оценке клинических, инструментальных и нейропсихологических данных. Когнитивные нарушения — ключевой признак ХИМ, часто проявляющийся в виде умеренных когнитивных расстройств. Оценка проводилась с использованием нейропсихологических тестов: мини-теста оценки психического статуса (MMSE) — для общей оценки когнитивных функций; монреальской шкалы когнитивной оценки (MoCA), более чувствительной к умеренным нарушениям, особенно в исполнительных функциях и внимании; тестов на речевую память Лурия.

Характерными симптомами ХИМ были следующие: снижение памяти, внимания, скорости обработки информации, нарушения исполнительных функций (планирование, принятие решений).

Структурное МРТ-исследование было направлено на определение степени поражения белого вещества (лейкоареоз). Степень поражения оценивали по шкале Fazekas.

С помощью МРТ выявляли лакунарные инфаркты, мелкие очаги (3–15 мм) в глубинных структурах мозга (базальные ганглии, таламус, мост). Слабое или умеренное

расширение желудочков или корковая атрофия была дополнительным признаком ХИМ.

Неврологическое обследование выявляло моторные и сенсорные нарушения, характерные для ХИМ: легкий гемипарез, дисметрию, асимметрию рефлексов, патологические рефлекс (например, рефлекс Бабинского); нарушения походки; дисфункцию вегетативной системы, например, ортостатическую гипотензию; экстрапирамидные симптомы, такие как тремор.

Нейропсихологическое тестирование уточняло характер и степень когнитивных нарушений памяти (вербальной, зрительной), исполнительных функций, речевой активности, зрительно-пространственных способностей.

Проводилась дифференциальная диагностика с нейродегенеративными заболеваниями.

Исследование с помощью фМРТ

У 21 больного проводили фМРТ покоя головного мозга в последовательности T2* для получения BOLD-сигнала на магнитно-резонансном томографе Magnetom Verio (Siemens, Germany) с величиной магнитной индукции 3,0 Тесла. Функциональные сканы были получены в состоянии покоя с использованием T2*-взвешенной последовательности EPI: TR = 1 500 мс, TE = 30 мс, flip angle 70°, толщина среза — 2 мм, FOV — 190 мм, фаза FoV — 100,0%. Больных предварительно инструктировали: максимально расслабиться, лежать спокойно с закрытыми глазами (для исключения стимуляции зрительного анализатора) и не думать ни о чем конкретном. МРТ-данные обрабатывали в программе SPM12 на платформе MATLAB. Для изучения коннективности использовали приложение CONN-18b, входящего в toolbox программы SPM-12.

Биохимические исследования

Определение катехоламинов в слюне. Содержание моноаминов, включая ДА, НА и АДР, и их метаболитов в слюне определяли с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ион-парная хроматография) с электрохимической детекцией (ВЭЖХ-ЭД), на жидкостном хроматографе System Gold (Beckman Coulter Inc., США), оснащенный амперометрическим детектором RECIPE EC 3000 (RECIPE Chemicals + Instruments GmbH; Германия), с инжектором Rheodyne 7125, петля для нанесения образцов — 20 мкл. Катехоламины хроматографически разделяли на обращенно-фазной колонке Nucleodur C18 Gravity, 4,6–250 мм, диаметр пор 5 мкм (Mashery-Nagel GmbH & Co. KG, Германия). Использовали насос System Gold 125 (Beckman Coulter Inc., США), скорость потока подвижной фазы — 1 мл/мин, при давлении 200 атм. Мобильная фаза для разделения катехоламинов: 0,1 М цитратно-фосфатный буфер, содержащий 1,1 мМ октансульфоновой кислоты, 0,1 мМ ЭДТА и 9% ацетонитрила (pH 3,0). Измерение проводили с помощью электрохимического детектора RECIPE EC 3000 (RECIPE Chemicals + Instruments GmbH; Германия), оборудованного измерительной ячейкой ClinLab ECD-Cell, Model Sputnik, стеклоглеродного рабочего электрода (+ 0,85 V) и хлорсеребряного электрода сравнения Ag/AgCl. Перед хроматографированием катехоламины изолировали из слюны методом твердо-фазной экстракции с применением в качестве экстрагента активированного оксида алюминия.

У пациентов определяли уровень кортизола в образцах слюны на иммунохемилюминесцентном анализаторе

Abbott i2000 ARCHITECT (Abbott Laboratories, Illinois, USA) с использованием наборов реагентов этого же производителя.

Образцы слюны собирали по протоколу, описанному ранее [9]. Пациенты не употребляли алкоголь в течение недели, не пили чай или кофе за 1 ч до забора слюны, за 10 мин до этого прополаскивали рот водой. Сбор слюны осуществляли путем ее сплевывания в пробирку объемом не менее 1,5 мл. Образцы слюны, загрязненные кровью, исключали из исследования, для этого использовали набор иммуноферментного анализа для определения загрязнения слюны кровью [12].

Прочие обследования

Пациентов исследовали на вербальную память с помощью теста Лурия, при контроле непосредственного и отсроченного воспроизведения 10 слов. Вербальную беглость словесных ответов, корректурный тест. Кроме этого, регистрировали артериальное давление, вычисляли пульсовое давление (разность между систолическим и диастолическим давлением) и частоту сердечных сокращений.

Статистическая обработка

Анализ полученных данных осуществляли с помощью статистического пакета прикладных программ Statistica-12 (Dell, США). Оценивали нормальность распределения по критерию Колмогорова–Смирнова и Лилифорса. Вычисляли средние арифметические, стандартные ошибки, проводили однофакторный дисперсионный и корреляционный анализы. Вычисляли ранговый коэффициент корреляции по Спирмену. Для анализа нейросетей дополнительно вычисляли Т-критерий по Стьюденту, а также использовали поправку на множественность сравнений — FDR (False Discovery Rate).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Распределение содержания КА: распределение ДА, НА, АДР в слюне при хронической ишемии мозга статистически значимо отклоняется от нормального (гауссовского) распределения (рис. 1).

Показатели критериев Колмогорова–Смирнова и Лилифорса указывают на достоверные отличия экспериментальных распределений от нормального, гауссовского. На рис. 1 представлены гистограммы распределения слюнных дофамина, норадреналина и адреналина. Диапазон изменений этих моноаминов соответствует вышеприведенным литературным данным [3–6].

Распределения различных катехоламинов в слюне в целом, близко к логнормальному. Для проверки все исходные значения были прологарифмированы. Оказалось, что по критерию Колмогорова–Смирнова d (максимальное расхождение между теоретическим и эмпирическим распределениями) для НА $d = 0,069$; для АДР $d = 0,086$; для ДА $d = 0,092$. Значения $p > 0,2$, полученные для этих логарифмированных распределений, указывают на то, что нет оснований утверждать об отличии логарифмированных распределений от нормальных для исследованных КА.

В силу общего происхождения неудивительна сопряженность катехоламинов между парами КА в фоне. В табл. 1 представлены значения коэффициентов

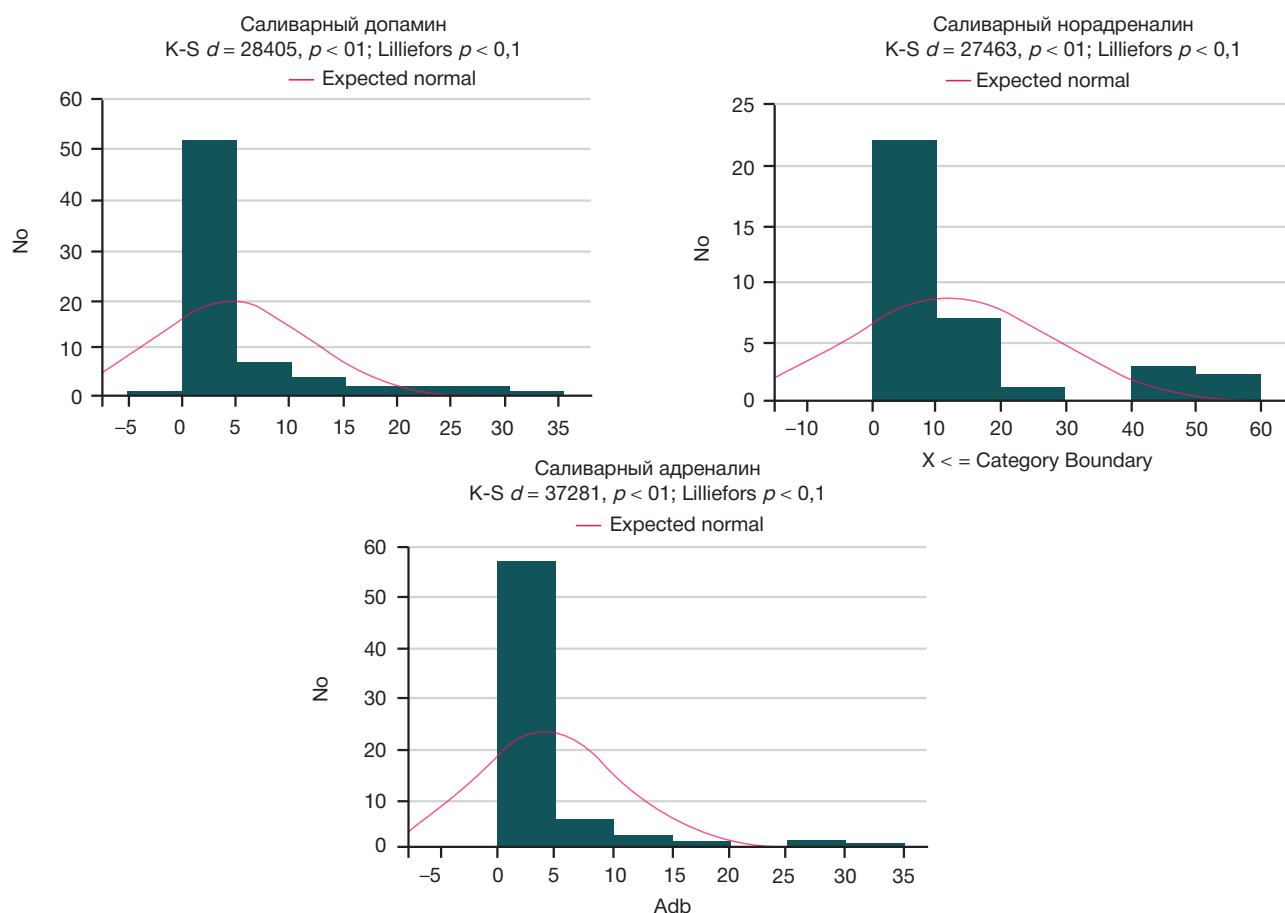


Рис. 1. Гистограммы распределения саливарных дофамина, норадреналина и адреналина (нг/мл). По оси ординат (Y) — количество испытуемых; по оси абсцисс (X) — концентрация катехоламинов (нг/мл). K-S — критерий Колмогорова–Смирнова, Lilliefors — критерий Лилифорса

корреляции, полученные при использовании непараметрической ранговой статистики.

Использование рангового корреляционного анализа Спирмена показало умеренную положительную связь между всеми парами КА. Все коэффициенты ранговой корреляции достоверно отличаются от нуля (табл. 1). Квадрат коэффициента корреляции отражает долю влияния или факторов, которые объясняют вариацию одной переменной через взаимосвязь с другой, поскольку он показывает, какая часть общей изменчивости переменной обусловлена линейной зависимостью с другой переменной. Поэтому доля факторов, которая определяется совместными влияниями КА между собой, составляет примерно 25%. Такая сопряженность указывает, что у пациентов с хронической ишемией мозга вероятность одновременно высокого (или низкого) содержания всех трех катехоламинов выше, чем вероятность каких-либо других несогласованных сочетаний их уровней.

Все пациенты были разделены на две подгруппы: в каждой подгруппе содержание КА было выше или ниже уровня медианы.

Таблица 1. Ранговые корреляции Спирмена (R)

Пары переменных	Число пар	Коэффициент корреляции Спирмена (R)	t(N-2)	p-уровень
НА & АДР	76	0,511801	5,12474	0,000002
НА & ДА	65	0,509447	4,699123	0,000015
АДР & ДА	62	0,490695	4,362181	0,000051

Примечания: НА — норадреналин; АДР — адреналин; ДА — дофамин; R — коэффициент корреляции Спирмена; t — t-критерий Стьюдента; p — уровень значимости.

Доля случаев, когда все три КА выше или ниже медианного уровня несколько больше половины (28 случаев из 50 возможных). Это означает, что состояния, когда все три КА находятся одновременно выше или ниже медианного уровня, составляют не менее половины всех возможных вариантов. Значения медианы для дофамина составило 1,447 (min — 0; max — 30,341) нг/мл; для норадреналина — 5,577 (min — 0,954; max — 56,647) нг/мл; для адреналина 2,408 (min — 0,057; max — 90,257) нг/мл.

Число пациентов, у которых все три КА были ниже медианы, — 13 (группа 1), выше уровня медианы — 15 человек (группа 2).

Группы 1 и 2 отличаются друг от друга тем, что все три КА ниже или выше медианного уровня. Пациенты этих групп достоверно различаются по ряду психофизиологических характеристик. Так у пациентов группы 1 достоверно ниже уровень кортизола, а показатели отсроченного воспроизведения слов по Лурия лучше, чем у представителей группы 2 (рис. 2).

Эти различия психофизиологических характеристик в двух группах поддерживают представления о наличии

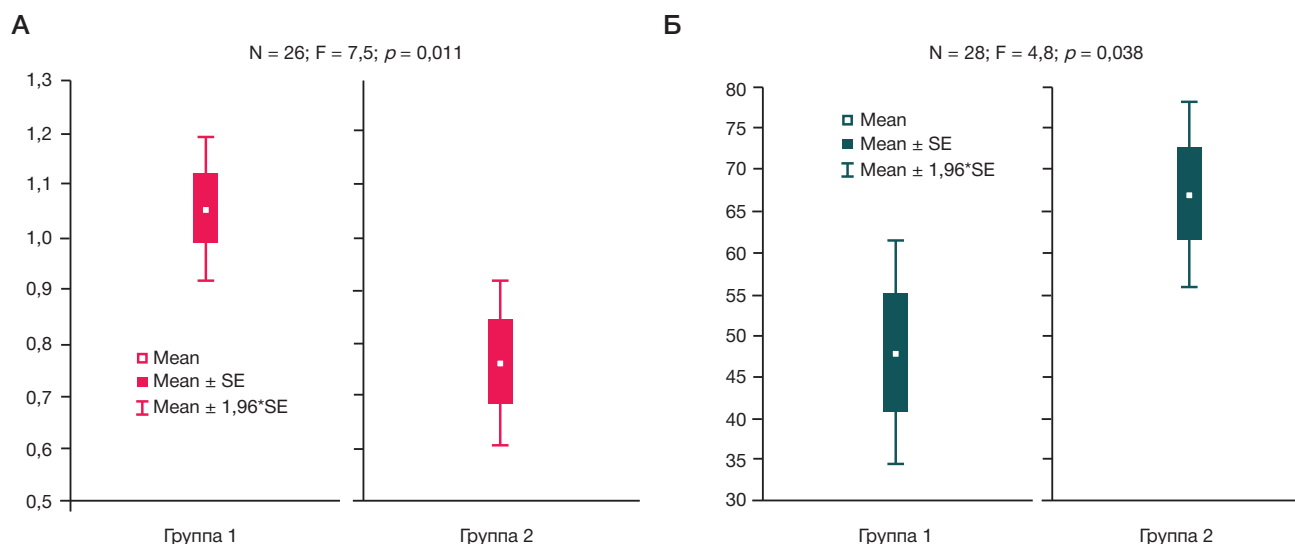


Рис. 2. Различия характеристик памяти (**А**) и слювенного кортизола (**Б**) в двух группах, различающихся по значениям КА. N — число обследованных; F — F-критерий; p — уровень значимости. **А.** По оси ординат отмечено отсроченное воспроизведение слов по отношению к среднему уровню непосредственного воспроизведения 10 слов по Лурия. **Б.** По оси ординат — содержание кортизола в слюне (нмоль/л)

различий в церебральной организации этих пациентов. Для оценки различий в церебральной организации групп 1 и 2 исследовали разность коннективностей в группах с содержанием всех трех КА ниже и выше медианы: группа 1 — группа 2.

С учетом ошибки на множественность сравнений (FDR) все различающиеся коннективности при более низких значениях КА были достоверно выше, чем при более высоких значениях КА (рис. 3).

Нами был выбран не традиционный $pFDR < 0,05$, а меньший уровень значимости $pFDR < 0,02$, для того чтобы рассматривать наиболее значимые закономерности, по которым отличалось множество коннективностей двух групп (рис. 3).

Благодаря циклической (замкнутой) организации связей (рис. 3), преобладающих в группе 1 при более низких значениях КА, создается устойчивая циркуляция возбуждения, захватывающая значительное число нервных центров, что соответствует более оптимальной функциональной организации мозга, что можно видеть, в том числе, и по результатам психофизиологических тестов (рис. 2).

Циркуляция возбуждения возможна, например, по следующей цепочке нервных образований, связанных общей синергией процессов возбуждения:

Мозжечок (Cerebellum) (включая червь (Vermis) мозжечка) — правая боковая сенсомоторная сеть (Sensori Motor Lateral) — левая верхняя лобная извилина (SFG) — левая супрамargинальная извилина (SMG) — мозжечок. Эта цепочка охватывает оба полушария и может поддерживать генерализованную синхронизацию процессов возбуждения.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В наших исследованиях биохимическими методами определяли содержание кортизола и катехоламинов в слюне. По литературным данным содержание этих веществ в слюне при ХИМ значительно выше, чем в норме. Уровень кортизола в слюне утром обычно достигает порядка единиц до десятков нмоль/л (в литературе часто указывают ориентировочно ~10–20 нмоль/л. При ХИМ указываются большие значения. В данной работе величина кортизола

при ХИМ выше примерно в 3–3,5 раза по сравнению с нормой по данным литературы [12–14].

При ХИМ отмечается тенденция к повышению уровней катехоламинов в слюне, что отражает усиление симпатической активности и нарушения сосудистой регуляции. Однако измерения в слюне нуждаются в стандартизации для клинического применения. Трудность состоит в том, что измерения катехоламинов

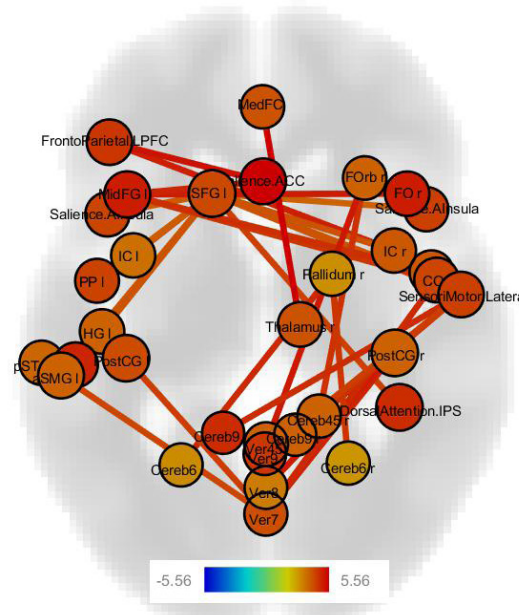


Рис. 3. Разность коннективностей при более низком и высоком уровнях всех катехоламинов (группа 1 — группа 2), $pFDR < 0,02$. Под рисунком представлена цветовая шкала T-критерия. r, l — правое и левое полушарие; Ver — Vermis (червь мозжечка), Cereb — cerebellar (мозжечок); цифры после Ver, Cereb — доли червя или мозжечка; AC — Cingulate Gyrus anterior part; ACC — Anterior Cingulate Cortex; Cuneal — Cuneal Cortex; CO — Center Operculum Cortex; Forb — Frontal Orbital Cortex; HG — Heschl's Gyrus; IC — Insular Cortex; sLOC — Lateral Occipital Cortex superior division; MedFC — Frontal Medial Cortex; PC — Cingulate Gyrus posterior division; aPaHC — Parahippocampal Gyrus anterior division; PaCiG — Paracingulate Gyrus; PostCG — Postcentral Gyrus; PreCG — Precentral Gyrus; PP — Planum Polare; SMA — Juxtapositional Lobule; SFG — Superior Frontal Gyrus; aSMG — aSTG — Superior Temporal Gyrus anterior division; toITG — Inferior Temporal Gyrus temporooccipital division; toMTG — Middle Temporal Gyrus temporooccipital part

не стандартизованы, только немногие авторы приводят конкретные цифры: в норме содержание в слюне норадреналина 20–30 пг/мл, а адреналина примерно 3–4 пг/мл [5]. В другой работе сообщается о примерном равенстве адреналина и норадреналина на уровне 0,1 пмоль/мл [4], а уровень дофамина составляет примерно 0,5 пмоль/мл [4–5].

Традиционно исследование отдельных КА нередко рассматривают без их связи с другими. Такой подход имеет тот недостаток, что поскольку КА связаны происхождением друг с другом, достаточно трудно вычленив свойства отдельных КА и их в некоторых случаях необходимо рассматривать в комплексе с другими КА. Активность КА в значительной мере отражает функциональное состояние мозга, например, из-за прямой связи некоторых из них (АДР и НА) с уровнем кортизола. Одним из вариантов «контекстного» рассмотрения является описанный выше анализ синхронизированных состояний КА. Эти функциональные состояния влияют как на когнитивные показатели, так и на метаболические, особенно связанные с уровнем стресса. Диапазон изменений КА различен по обе стороны от медианы, вероятно, потому, что под влиянием стресса меняется продукция КА, а также возможны нарушения в функционировании механизма отрицательной обратной связи, который ограничивает выброс КА, что также может быть связано со стрессом [15, 16]. В здоровом состоянии количество КА, выделяемых надпочечниками и симпатической нервной системой, регулируется механизмами отрицательной обратной связи. Когда уровень КА достигает определенных значений, происходит торможение дальнейшей выработки КА, что предотвращает избыточную активацию симпатoadреналовой системы. При длительном или хроническом стрессе наблюдается постоянная стимуляция симпатической нервной системы и надпочечников. Это приводит к постоянному высокому уровню катехоламинов в крови. Механизм отрицательной обратной связи начинает работать менее эффективно, т. е. теряется контроль над продукцией адреналина и норадреналина, что приводит к отрицательным последствиям для работы мозга.

Основным отличием коннективной организации мозга в группе с более низким содержанием КА является наличие замкнутой цепи коннективностей, следствием которой могут быть процессы длительной потенциации. Замкнутые нейронные сети — это сети, в которых входы и выходы циклично замыкаются, что обеспечивает хранение и процессинг информации в замкнутой структуре [17]. Ранее были рассмотрены нейронные сети у пациентов, различающихся по содержанию только слюнного НА, эти сети не были циклическими, замкнутыми [18].

Можно предполагать, что циркуляция возбуждения по замкнутой цепочке нервных структур действительно может поддерживать синергетические процессы между различными мозговыми регионами. Рассмотрим некоторые характерные особенности этой замкнутой цепи.

Известно, что мозжечок играет ключевую роль в координации движений и поддержании равновесия. Он также участвует в когнитивных функциях, таких как обучение и память. Его способность к интеграции сенсорной информации и моторного выхода делает его важным звеном в данной цепи. Мозжечок может также интегрировать информацию из различных сенсомоторных источников, обеспечивая согласованность между различными частями тела и модулируя активность кортикальных структур. Связь

между правой боковой сенсомоторной сетью и левыми кортикальными структурами (верхняя лобная извилина и супрамаргинальная извилина) может быть обусловлена механизмами перекрестной сенсорной обработки, что позволяет обрабатывать и интегрировать информацию из обеих половин тела и сенсорных входов. При этом левые верхняя лобная (SFG) и супрамаргинальная извилины (SMG) участвуют в высших когнитивных функциях, таких как внимание, решение проблем и планирование. Увеличение возбуждения в этих областях может усиливать обработку когнитивной информации и улучшать управляемые действия, связанные с моторной активностью. Описанная выше цепочка может эффективно использовать механизмы обратной связи. Возбуждение, инициированное в одном узле, может возвращаться к предыдущим узлам, создавая устойчивую активность и возможное усиление (потенцирование) синаптической силы в этих местах. Такой «замкнутый контур» может способствовать синхронизации нейронной активности между различными регионами мозга, что важно для поддержания устойчивости поведения и моторной координации. Эта синхронизация может быть связана с генерацией ритмической нервной активности, которая играет роль в объединении различных аспектов сенсорной и моторной информации. Циркуляция возбуждения может способствовать изменению структур на уровне синапсов, так как повторные активации могут приводить к процессам, связанным с синаптической пластичностью (например, долговременная потенцияция или долговременная депрессия), которые могут укреплять связи между соответствующими нейронными образованиями.

Таким образом, циркуляция возбуждения по указанной выше нервной цепи демонстрирует сложные взаимодействия между координацией движений и когнитивной обработкой. Эти взаимодействия могут поддерживать эффективную работу как в сенсомоторной, так и в когнитивной сфере, обеспечивая синергетический механизм для адаптации и обучения. В замкнутых цепочках коннективностей, таких как нейронные сети, возбуждение может циркулировать, создавая повторные запуски нейронной активности. Этот процесс может способствовать длительной потенциации посредством следующих механизмов.

1. Усиленная активация нейронов. Длительная циркуляция возбуждения может поддерживать высокие уровни внутриклеточного кальция внутри нейронов. Рост уровня кальция способствует более мощному высвобождению нейротрансмиттеров и увеличению синаптической передачи, что является важнейшей составляющей как для кратковременной, так и для длительной синаптической пластичности [19].

2. Создание положительной обратной связи. Возбуждение в замкнутой цепи может привести к активному возвращению сигнала через возбуждающие синапсы. Такой механизм может создать состояние, способствующее потенциации, так как связанные нейроны продолжают активироваться, что усиливает передачу информации и подготавливает синапсы к следующим активациям [20].

3. Модуляция нейронной активности. Взаимная модуляция нейронов в цепи может приводить к долговременному изменению синаптической силы, что является основой для синаптической пластичности. Это явление, в свою очередь, способствует долговременной потенциации [21]. Синаптическая сила — это мера эффективности передачи сигнала между нейронами на

уровне синапса. Синаптическая сила определяется тем, насколько сильно постсинаптический нейрон реагирует на активацию пресинаптического нейрона и отражает количество нейротрансмиттеров, высвобождаемых в синаптическую щель, а также чувствительность постсинаптических рецепторов к этим нейротрансмиттерам.

Модуляция потенциации может происходить через различные механизмы, такие как увеличение экспрессии рецепторов или изменение структуры синапсов, что способно закрепить изменения в нейронной сети, относящиеся к процессам обучения и памяти.

Таким образом, можно предполагать, что длительная циркуляция возбуждения по замкнутой цепочке может поддерживать условия для длительной потенциации. Она особенно важна в контексте нейропластичности, процессов обучения и памяти, так как изменения в синаптической передаче могут приводить к длительным изменениям в нейронных сетях.

Однако повышенный уровень кортизола и катехоламинов нарушает кровоснабжение мозга и приводит к остановке циркуляции возбуждения в нейросетях мозга [22].

ВЫВОДЫ

Установлена статистически значимая связь устойчивых сочетаний саливарных катехоламинов с организацией церебральных функций у больных хронической ишемией мозга. Полученные данные подтверждают, что комплексный совместный анализ уровней ДА, НА и АДР в слюне может служить информативным маркером функционального состояния мозга при данной патологии. Для группы больных с ХИМ, у которых выявлена высокая сопряженность саливарных КА при относительно невысоком уровне КА (ниже уровня медианы), наблюдалось наличие замкнутых нейронных сетей. Предполагается, что эти сети могут способствовать более высокой длительной потенциации, возможно, благодаря которой у этой группы больных имеют место более высокие когнитивные показатели. Высокий уровень катехоламинов и кортизола, сопровождающий нарушение кровоснабжения мозга, негативно влияет на коннективность нейросетей мозга. Неинвазивный метод оценки катехоламинов и их качественный анализ могут быть полезны для исследования организации сетей мозга при цереброваскулярной патологии.

Литература

- Eisenhofer G, Kopin IJ, Goldstein DS. Catecholamine metabolism: a contemporary view with implications for physiology and medicine. *Pharmacol Rev.* 2004; 56 (3): 331–49. DOI: 10.1124/pr.56.3.1. PMID: 15317907.
- Goldstein DS, Eisenhofer G, Kopin, IJ. Sources and Significance of Plasma Levels of Catechols and Their Metabolites in Humans. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 2003; 305 (3), 800–811. Available from: <https://doi.org/10.1124/JPET.103.049270>.
- Schwab KO, Heubel G, Bartels H. Free epinephrine, norepinephrine and dopamine in saliva and plasma of healthy adults. *Eur J Clin Chem Clin Biochem.* 1992; 30 (9): 541–44. PMID: 1457617.
- Okumura T, Nakajima Y, Matsuoka M, Takamatsu T. J Chromatogr B Biomed Sci Appl. 1997; 694 (2): 305–16. DOI: 10.1016/S0378-4347(97)00106-0. PMID: 9252044.
- Kennedy B, Dillon E, Mills PJ, Ziegler MG. Catecholamines in human saliva. *Life Sci.* 2001; 69 (1): 87–99. DOI: 10.1016/S0024-3205(01)01111-0. PMID: 11411808.
- Lei, S. (2014). Cross interaction of dopaminergic and adrenergic systems in neural modulation. *International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology.* 2014; 6 (3): 137–42. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25349636/>.
- Парфенов В. А. Сосудистые когнитивные нарушения и хроническая ишемия головного мозга (дисциркуляторная энцефалопатия). *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика.* 2019; 11 (Прил. 3): 61–67.
- Танашян М. М., Антонова К. В., Раскуражев А. А., Лагода О. В. Цереброметаболическое здоровье. М.: МедиаСфера, 2025; 260 с.
- Graff-Radford J. Vascular Cognitive Impairment. *Continuum (Minneapolis).* 2019; 25 (1): 147–64. DOI: 10.1212/CON.0000000000000684. PMID: 30707191; PMCID: PMC6548535.
- Wardlaw JM, Smith EE, Biessels GJ, Cordonnier C, Fazekas F, Frayne R, et al. Standards for Reporting Vascular changes on nEuroimaging (STRIVE v1). *Neuroimaging standards for research into small vessel disease and its contribution to ageing and neurodegeneration.* *Lancet Neurol.* 2013; 12 (8): 822–38. DOI: 10.1016/S1474-4422(13)70124-8. PMID: 23867200; PMCID: PMC3714437.
- Morris JC. Clinical dementia rating: a reliable and valid diagnostic and staging measure for dementia of the Alzheimer type. *Int Psychogeriatric.* 1997; 9 (Suppl 1): 173–76.
- Vining RF, McGinley RA, Maksvytis JJ, Ho KY. Salivary cortisol: a better measure of adrenal cortical function than serum cortisol. *Ann Clin Biochem.* 1983; 20 (Pt 6): 329–35. DOI: 10.1177/000456328302000601. PMID: 6316831.
- Kudielka BM, Kirschbaum C. Awakening cortisol responses are influenced by health status and awakening time but not by menstrual cycle phase. *Psychoneuroendocrinology.* 2003; 28 (1): 35–47. DOI: 10.1016/S0306-4530(02)00008-2. PMID: 12445835.
- Фокин В. Ф., Шабалина А. А., Пономарева Н. В., Медведев Р. Б., Лагода О. В., Танашян М. М. Кортизол, цитокины и вегетативные изменения при когнитивной нагрузке у больных хронической ишемией мозга. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2023; 67 (3): 51–57. DOI: 10.25557/0031-2991.2023.03.51-57.
- Kvetnansky R, Sabban EL, Palkovits M. Catecholaminergic systems in stress: structural and molecular genetic approaches. *Physiol Rev.* 2009; 89 (2): 535–606. DOI: 10.1152/physrev.00042.2006. PMID: 19342614.
- Goldstein DS. Catecholamines and stress. *Endocrine Regulations.* 2003; 37 (2): 69–80. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12932192/>.
- Rosenbaum R. Short Term Plasticity, Biophysical Models. Available from: <https://dblp.uni-trier.de/db/reference/cn/cn2014.html>.
- Фокин В. Ф., Абаимов Д. А., Пономарева Н. В., Медведев Р. Б., Коновалов Р. Н., Лагода О. В., и др. Нейросети, чувствительные к уровню норадреналина у больных хронической ишемией мозга. *Асимметрия.* 2022; 16 (3): 23–31.
- Zucker RS, Regehr WG. Short-term synaptic plasticity. *Annu Rev Physiol.* 2002; 64: 355–405. DOI: 10.1146/annurev.physiol.64.092501.114547. PMID: 11826273.
- Thompson RF, Kim JJ. Memory systems in the brain and localization of a memory. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996; 93 (24): 13438–44. DOI: 10.1073/pnas.93.24.13438. PMID: 8942954; PMCID: PMC33628.
- Malenka RC, Bear MF. LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron.* 2004; 44 (1): 5–21. DOI: 10.1016/j.neuron.2004.09.012. PMID: 15450156.
- Tank AW, Lee Wong D. Peripheral and central effects of circulating catecholamines. *Compr Physiol.* 2015; 5 (1): 1–15. DOI: 10.1002/cphy.c140007.

References

1. Eisenhofer G, Kopin IJ, Goldstein DS. Catecholamine metabolism: a contemporary view with implications for physiology and medicine. *Pharmacol Rev.* 2004; 56 (3): 331–49. DOI: 10.1124/pr.56.3.1. PMID: 15317907.
2. Goldstein DS, Eisenhofer G, Kopin IJ. Sources and Significance of Plasma Levels of Catechols and Their Metabolites in Humans. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 2003; 305 (3): 800–811. Available from: <https://doi.org/10.1124/JPET.103.049270>.
3. Schwab KO, Heubel G, Bartels H. Free epinephrine, norepinephrine and dopamine in saliva and plasma of healthy adults. *Eur J Clin Chem Clin Biochem.* 1992; 30 (9): 541–44. PMID: 1457617.
4. Okumura T, Nakajima Y, Matsuoka M, Takamatsu T. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 1997; 694 (2): 305–16. DOI: 10.1016/S0378-4347(97)00106-0. PMID: 9252044.
5. Kennedy B, Dillon E, Mills PJ, Ziegler MG. Catecholamines in human saliva. *Life Sci.* 2001; 69 (1): 87–99. DOI: 10.1016/S0024-3205(01)01111-0. PMID: 11411808.
6. Lei, S. (2014). Cross interaction of dopaminergic and adrenergic systems in neural modulation. *International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology.* 2014; 6 (3): 137–42. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25349636/>.
7. Parfenov VA. Sosudistye kognitivnye narusheniya i hronicheskaya ishemiya golovnogo mozga (discirkulyatornaya encefalopatiya). *Nevrologiya, neyropsihiatriya, psihosomatika.* 2019; 11 (Pril. 3): 61–67. Russian.
8. Tanashyan MM, Antonova KV, Raskurazhev AA, Lagoda OV. *Cerebrometabolicheskoe zdorov'e.* M.: MediaSfera, 2025; 260 s.
9. Graff-Radford J. Vascular Cognitive Impairment. *Continuum (Minneap Minn).* 2019; 25 (1): 147–64. DOI: 10.1212/CON.0000000000000684. PMID: 30707191; PMCID: PMC6548535.
10. Wardlaw JM, Smith EE, Biessels GJ, Cordonnier C, Fazekas F, Frayne R, et al. Standards for Reporting Vascular changes on nEuroimaging (STRIVE v1). *Neuroimaging standards for research into small vessel disease and its contribution to ageing and neurodegeneration.* *Lancet Neurol.* 2013; 12 (8): 822–38. DOI: 10.1016/S1474-4422(13)70124-8. PMID: 23867200; PMCID: PMC3714437.
11. Morris JC. Clinical dementia rating: a reliable and valid diagnostic and staging measure for dementia of the Alzheimer type. *Int Psychogeriatric.* 1997; (9 Suppl 1): 173–76.
12. Vining RF, McGinley RA, Maksvytis JJ, Ho KY. Salivary cortisol: a better measure of adrenal cortical function than serum cortisol. *Ann Clin Biochem.* 1983; 20 (Pt 6): 329–35. DOI: 10.1177/000456328302000601. PMID: 6316831.
13. Kudielka BM, Kirschbaum C. Awakening cortisol responses are influenced by health status and awakening time but not by menstrual cycle phase. *Psychoneuroendocrinology.* 2003; 28 (1): 35–47. DOI: 10.1016/S0306-4530(02)00008-2. PMID: 12445835.
14. Fokin VF, SHabalina AA, Ponomareva NV, Medvedev RB, Lagoda OV, Tanashyan MM. Kortizol, citokiny i vegetativnye izmeneniya pri kognitivnoj nagruzke u bol'nyh hronicheskoy ishemiej mozga. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya.* 2023; 67 (3): 51–57. DOI: 10.25557/0031-2991.2023.03.51-57. Russian.
15. Kvetnansky R, Sabban EL, Palkovits M. Catecholaminergic systems in stress: structural and molecular genetic approaches. *Physiol Rev.* 2009; 89 (2): 535–606. DOI: 10.1152/physrev.00042.2006. PMID: 19342614.
16. Goldstein DS. Catecholamines and stress. *Endocrine Regulations.* 2003; 37 (2): 69–80. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12932192/>.
17. Rosenbaum R. Short Term Plasticity, Biophysical Models. Available from: <https://dblp.uni-trier.de/db/reference/cn/cn2014.html>.
18. Fokin VF, Abaimov DA, Ponomareva NV, Medvedev RB, Konovalov RN, Lagoda OV, i dr. Nejroseti, chuvstvitel'nye k urovnyu noradrenalina u bol'nyh hronicheskoy ishemiej mozga. *Asimmetriya.* 2022; 16 (3): 23–31. Russian.
19. Zucker RS, Regehr WG. Short-term synaptic plasticity. *Annu Rev Physiol.* 2002; 64: 355–405. DOI: 10.1146/annurev.physiol.64.092501.114547. PMID: 11826273.
20. Thompson RF, Kim JJ. Memory systems in the brain and localization of a memory. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996; 93 (24): 13438–44. DOI: 10.1073/pnas.93.24.13438. PMID: 8942954; PMCID: PMC33628.
21. Malenka RC, Bear MF. LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron.* 2004; 44 (1): 5–21. DOI: 10.1016/j.neuron.2004.09.012. PMID: 15450156.
22. Tank AW, Lee Wong D. Peripheral and central effects of circulating catecholamines. *Compr Physiol.* 2015; 5 (1): 1–15. DOI: 10.1002/cphy.c140007.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ МЕЛАТОНИНА PER RECTUM ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОСТРОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

М. В. Осиков^{1,2}, А. В. Шеломенцев^{1,3}✉, М. С. Бойко¹, Ю. С. Шишкова¹, А. А. Федосов⁴¹ Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия² Челябинская областная клиническая больница, Челябинск, Россия³ Челябинский областной клинический терапевтический госпиталь для ветеранов войн, Челябинск, Россия⁴ Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы, Москва, Россия

При лечении ишемического инсульта (ИИ) мелатонин (МТ) может быть перспективным нейропротектором с плейотропным механизмом действия. Цель исследования — *in vivo* изучить влияние МТ в составе оригинальных ректальных суппозиториях (РС) на неврологический статус (НС) и микроциркуляцию в очаге повреждения при экспериментальной острой ишемии головного мозга (ЭОИГМ). 30 крыс разделили на три группы по 10 особей: 1) ложнопериоперированные (ЛО); 2) особи с ЭОИГМ; 3) особи с ЭОИГМ, получающие оригинальные РС с МТ на протяжении 7 суток. Животным групп 2 и 3 моделировали ЭОИГМ по модифицированной методике Chen S. T., et al. На 3 и 7 сутки оценивали НС по шкалам Garcia J. H., Placing test, Bederson test и показатель микроциркуляции (ПМ) в очаге повреждения головного мозга методом лазерной флуометрии. У животных с ЭОИГМ по сравнению с ЛО на 3 сутки зафиксировано значимое снижение баллов по шкале Garcia на 58,3% ($p = 0,001$), по Placing test — на 57,9% ($p = 0,002$), увеличение баллов по Bederson test; на 7 сутки зафиксировано значимое снижение баллов по шкале Garcia J. H. на 75% ($p < 0,001$), по Placing test — на 78,9% ($p < 0,001$), увеличение баллов по Bederson test. ПМ на 3 сутки снизился на 30% ($p = 0,02$), на 7 сутки — на 38% ($p = 0,005$). Применение РС с МТ приводило к восстановлению неврологического дефицита в виде значимого увеличения баллов на 3 сутки по шкале Garcia на 53,3% ($p = 0,008$), по Placing test — на 50% ($p = 0,016$) и снижения баллов по Bederson test на 50% ($p = 0,029$); на 7 сутки фиксировали значимое увеличение баллов по шкале Garcia J. H. на 233% ($p < 0,0001$), по Placing test — на 325% ($p < 0,0001$) и снижение баллов по Bederson test на 100% ($p < 0,0001$). ПМ на 3 сутки повысился на 12,5% ($p = 0,016$), на 7 сутки на 43,9% ($p = 0,005$). Установлено, что уменьшение неврологического дефицита у животных с ЭОИГМ в условиях применения РС с МТ ассоциировано с повышением ПМ в очаге ишемического повреждения головного мозга. Таким образом, частичное восстановление НС в условиях применения РС с МТ при ЭОИГМ обусловлено его вазоактивными свойствами.

Ключевые слова: мелатонин, ректальные суппозитории, ишемический инсульт**Вклад авторов:** М. В. Осиков — концепция и дизайн исследования, редактирование и утверждение рукописи; А. В. Шеломенцев — сбор данных, обзор литературы, анализ и интерпретация результатов; М. С. Бойко — статистический анализ; Ю. С. Шишкова, А. А. Федосов — редактирование рукописи.**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России (протокол № 5 от 10 июня 2024 г.). Условия содержания животных и работы с ними соответствовали руководству ARRIVE (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments) и правилам работы с животными на основе положений Хельсинкской декларации и рекомендаций, содержащихся в Директиве ЕС 86/609/ECC и Конвенции Совета Европы по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей.✉ **Для корреспонденции:** Шеломенцев Алексей Викторович
ул. Воровского, д. 64, г. Челябинск, 454092, Россия; avschelomenzew18@mail.ru**Статья получена:** 24.06.2025 **Статья принята к печати:** 21.07.2025 **Опубликована онлайн:** 26.07.2025**DOI:** 10.24075/vrgmu.2025.035**Авторские права:** © 2025 принадлежат авторам. **Лицензиат:** РНИМУ им. Н. И. Пирогова. Статья размещена в открытом доступе и распространяется на условиях лицензии Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

EFFICACY OF USING MELATONIN PER RECTUM FOR EXPERIMENTAL ACUTE CEREBRAL ISCHEMIA

Osikov MV^{1,2}, Shelomentsev AV^{1,3}✉, Boyko MS¹, Shishkova YuS¹, Fedosov AA⁴¹ South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia² Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russia³ Chelyabinsk Regional Clinical Therapeutic Hospital for War Veterans, Chelyabinsk, Russia⁴ Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

With limited efficacy and safety of the methods to treat ischemic stroke (IS), melatonin (MT) can be considered a promising neuroprotective agent having a pleiotropic mechanism of action. The study aimed to assess the effect of MT contained in original rectal suppositories on the neurological status and microcirculation in the injury focus in experimental acute cerebral ischemia (EACI) *in vivo*. A total of 30 sexually mature rats were divided into three groups, 10 animals per group: sham-operated (SO) animals; animals with EACI; animals with EACI receiving original rectal suppositories weighing 100 mg with 2.5 mg of melatonin (MT) throughout 7 days. On days 3 and 7, neurological status was assessed using the Garcia JH score, Placing test, Bederson test; microcirculation rate (MR) was assessed in the brain injury focus by laser flowmetry. A significant decrease in the Garcia JH scores by 58.3% ($p = 0.001$), Placing Test scores by 57.9% ($p = 0.002$), along with the significant increase in the Bederson Test scores in animals with EACI compared to SO animals was reported on day 3; the significant decrease in the Garcia JH scores by 75% ($p < 0.001$), Placing Test scores by 78.9% ($p < 0.001$) and the significant increase in the Bederson Test scores were reported on day 7. MR decreased by 30% on day 3 ($p = 0.02$), by 38% on day 7 ($p = 0.005$). The use of the MT-based rectal suppositories resulted in the neurological deficit restoration in the form of the significant increase in the Garcia JH scores by 53.3% ($p = 0.008$), Placing Test scores by 50% ($p = 0.016$) and the significant decrease in the Bederson Test scores by 50% ($p = 0.029$) on day 3; on day 7, the significant increase in the Garcia JH scores by 233% ($p < 0.0001$), Placing Test scores by 325% ($p < 0.0001$) and the significant decrease in the Bederson Test scores by 100% ($p < 0.0001$) were reported. MR increased by 12.5% on day 3 ($p = 0.016$), by 43.9% on day 7 ($p = 0.005$). The correlation analysis revealed the association between the neurological status and MR values: the neurological deficit improvement in animals with EACI in the context of receiving the MT-based rectal suppositories was associated with the MR increase in the ischemic focus in the brain. Thus, partial neurological status restoration in the context of using the MT-based rectal suppositories for EACI resulted from the MT vasoactive properties, which was reflected in the MR increase in the ischemic focus in the brain.

Keywords: melatonin, rectal suppositories, ischemic stroke**Author contribution:** Osikov MV — study concept and design, manuscript editing and approval; Shelomentsev AV — data acquisition, literature review, analysis and interpretation of the results; Boyko MS — statistical analysis; Shishkova YuS, Fedosov AA — manuscript editing.**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the South Ural State Medical University (protocol No. 5 dated 10 June 2024). Animals were kept and handled in accordance with the ARRIVE (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments) guidelines and animal handling principles based on the provisions of the Declaration of Helsinki and the guidelines contained in the EU Council Directive 86/609/ECC and the European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes.✉ **Correspondence should be addressed:** Alexey V. Shelomentsev
Vorovskogo, 64, Chelyabinsk, 454092, Russia; avschelomenzew18@mail.ru**Received:** 24.06.2025 **Accepted:** 21.07.2025 **Published online:** 26.07.2025**DOI:** 10.24075/brsmu.2025.035**Copyright:** © 2025 by the authors. **Licensee:** Pirogov University. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

В настоящее время ишемический инсульт (ИИ) занимает второе место среди причин смертности и третье место среди причин инвалидизации населения в мире [1]. В РФ ежегодно регистрируется более 450 тыс. случаев инсульта в год, при этом летальность варьирует от 17,6 до 20,7% [2]. Патогенез ИИ многофакторный и включает такие механизмы, как нейровоспаление, глутаматергическая эксайтотоксичность и окислительный стресс, приводящие к гибели нейронов в очаге ишемического повреждения [3]. Существующие патогенетические подходы в лечении ИИ демонстрируют ограниченную эффективность и безопасность в связи с наличием узкого терапевтического окна, высокого риска геморрагической трансформации, низкой проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) для нейропротекторов, а также наличием скудных представлений о их фармакокинетике и достаточно частых побочных эффектах, что подчеркивает необходимость разработки новых терапевтических стратегий, направленных на нейропротекцию [4]. В связи с этим интерес представляет мелатонин (МТ), обладающий плейотропными эффектами, включая антиоксидантный, противовоспалительный, вазоактивный, антиапоптотический [5–7]. В ряде работ продемонстрировано нейропротективное действие МТ при ИИ, реализующееся посредством прямого его связывания со свободными радикалами, повышения активности ключевых антиоксидантных ферментов (глутатионпероксидазы, каталазы), ингибирования каспазы-3 и пути NF- κ B, а также снижения экспрессии AQP4 и усиления синтеза SIRT-1 в очаге ишемического повреждения головного мозга и как следствие уменьшения объема инфаркта головного мозга с последующим улучшением неврологического дефицита [8–10]. Однако применение МТ как потенциального нейропротектора в виде пероральных лекарственных форм может быть существенно ограничено постинсультной дисфагией, которая наблюдается в 81% случаев у пациентов, перенесших ИИ [11]. Альтернативное применение инъекционных лекарственных форм позволяет обойти проблему постинсультной дисфагии, однако сопряжено с постоянной ретравматизацией пациента при выполнении инъекций, высоким риском микробной контаминации и др. [12]. Ректальные суппозитории с МТ представляют собой перспективную лекарственную форму, обеспечивающую атравматичный путь введения и низкий риск микробной контаминации. В РФ отсутствуют разрешенные ректальные лекарственные формы с МТ, предназначенные для нейропротекторной терапии ИИ, которые могли бы эффективно доставлять лекарственное средство и оказывать системное воздействие на очаг ишемического повреждения головного мозга, минимизируя риск травматизации и инфекционных осложнений. В связи с потенциальными преимуществами атравматичного пути введения и низкого риска инфекционных осложнений актуальны разработка и изучение ректальных суппозиториях с МТ при ИИ. Цель исследования — в экспериментальных условиях *in vivo* изучить влияние мелатонина в составе оригинальных ректальных суппозиториях на неврологический статус и микроциркуляцию в очаге ишемического повреждения головного мозга при экспериментальной острой ишемии головного мозга.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент выполняли на 30 половозрелых крысах — самцах линии Wistar массой 220–240 г, полученных из экспериментально-биологической клиники ФГБОУ ВО

ЮУГМУ Минздрава России, в весенне-летний период. Животных содержали при естественном освещении, температуре 20–22 °C и относительной влажности воздуха 60–70%. Методом простой рандомизации всех крыс разделили на три группы по 10 особей: группа 1 — ложнопериоперированные животные (ЛО), группа 2 — животные с экспериментальной острой ишемией головного мозга (ЭОИГМ), группа 3 — животные с ЭОИГМ, которым вводили оригинальные ректальные суппозитории массой 100 мг, содержащие 2,5 мг МТ, каждые 24 ч на протяжении 7 суток [13].

Моделирование ЭОИГМ выполняли с использованием модифицированной методики на основе метода Chen S. T. под комбинированным золетил-ксилазиновым наркозом [14, 15]. Животным групп 2 и 3 выполняли рассечение кожи между левой ушной раковиной и левым глазом длиной до 2 см. В области разреза расслаивали мягкие ткани до костей черепа и наносили фрезевое отверстие диаметром 5 мм с помощью высокоскоростного бора (20 000 об./мин) под постоянным ирригационным охлаждением. Производили селективную диатермокоагуляцию пияльных сосудов головного мозга (15 В, 3 с) в зоне коркового представительства средней мозговой артерии под операционным микроскопом при увеличении $\times 10$. Все методические аспекты исследования соответствовали современным стандартам экспериментального моделирования церебральной ишемии [16, 17]. Животным группы 1 выполняли все последовательные оперативные вмешательства, исключая селективную диатермокоагуляцию пияльных сосудов головного мозга.

Из дальнейшего исследования было исключено три особи (две из группы 2 и одна из группы 3), погибшие в первые 6 ч после оперативного вмешательства. Таким образом, было сформировано три группы животных: группа 1 ($n = 10$), группа 2 ($n = 8$), группа 3 ($n = 9$).

На 3 и 7 сутки во всех группах оценивали неврологический статус с помощью шкалы Garcia J. H., Placing test, Bederson test [18, 19, 20]. Результаты каждого отдельного теста выражали в виде баллов.

Микроциркуляцию в очаге ишемического повреждения головного мозга оценивали методом лазерной доплеровской флуометрии в течение 5 мин с использованием прибора «ЛААК — 01» (НПП «ЛАЗМА», Россия). Показатели обрабатывали с помощью комплекта программ ООО «Лазма» (Россия) и рассчитывали ПМ по формуле: $PM = N_{\text{эр}} + V_{\text{ср}}$, где $N_{\text{эр}}$ — концентрация эритроцитов в зондируемом объеме тканей, $V_{\text{ср}}$ — усредненная скорость эритроцитов. Величину ПМ выражали в перфузионных единицах (пф. ед).

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета IBM SPSS Statistics 19. Для оценки нормальности распределения количественных показателей применяли критерий Шапиро–Уилка. Поскольку большинство исследуемых параметров не подчинялось нормальному закону распределения, анализ проводили с помощью непараметрических методов. Для межгрупповых сравнений использовали критерий Краскела–Уолиса (при сравнении трех и более групп), U -критерий Манна–Уитни (для попарного сравнения групп). При оценке внутригрупповой динамики (сравнение показателей на 3-й и 7-е сутки) применяли парный критерий Вилкоксона (для связанных выборок), для анализа корреляционных взаимосвязей — коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r). Данные представляли в виде медианы (Me) и нижнего и верхнего квартиля (Q_1 ; Q_3). Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Таблица 1. Влияние МТ на неврологический статус при ЭОИГМ (Ме [Q₁; Q₃])

Показатель	Группа 1		Группа 2		Группа 3	
	3 сутки (n = 10)	7 сутки (n = 10)	3 сутки (n = 8)	7 сутки (n = 8)	3 сутки (n = 9)	7 сутки (n = 9)
Шкала Garcia, баллы	18,00 [18,00; 18,00]	18,00 [18,00; 18,00]	7,50 [7,00; 8,00]*	4,50 [3,00; 6,00] *&	11,50 [10,00; 13,00] *#	15,00 [14,00; 16,00] *#&
Bederson test, баллы	0,00 [0,00; 0,00]	0,00 [0,00; 0,00]	2,00 [2,00; 3,00]*	4,00 [4,00; 4,00] *&	1,00 [1,00; 2,00] *#	0,00 [0,00; 1,00] *#&
Placing test, балл	9,50 [9,00; 10,00]	9,50 [9,00; 10,00]	4,00 [3,00; 4,00]*	2,00 [1,00; 2,00] *&	6,00 [6,00; 7,00] *#	8,50 [8,00; 9,00] *#&

Примечание: значимые различия согласно критерию Манна–Уитни обозначены: * — по сравнению с группой 1 ($p < 0,05$), # — по сравнению с группой 2 ($p < 0,05$); & — значимые различия согласно критерию Уилкоксона между 3 и 7 сутками в одной группе ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При ЭОИГМ на 3 и 7 сутки регистрировали очаговый неврологический дефицит в виде правостороннего гемипареза, статолокомоторных нарушений. У животных с ЭОИГМ по сравнению с ЛО фиксировали значимое снижение баллов по шкале Garcia J. H. на 58,3% ($p = 0,001$), по Placing test — на 57,9% ($p = 0,002$) и значимое увеличение баллов по Bederson test; на 7 сутки фиксировали значимое снижение баллов по шкале Garcia J. H. на 75% ($p < 0,001$), по Placing test — на 78,9% ($p < 0,001$) и значимое увеличение баллов по Bederson test. У животных с ЭОИГМ на 7 сутки в сравнении с 3 сутками регистрировали значимое снижение баллов по шкале Garcia J. H. на 40% ($p = 0,008$), Placing test — на 50,0% ($p = 0,003$), значимое увеличение баллов по Bederson test — на 100% ($p = 0,001$) (табл. 1).

При исследовании микроциркуляции у животных с ЭОИГМ по сравнению с ЛО ПМ на 3 сутки снижался на 30% ($p = 0,02$), на 7 сутки на 38% ($p = 0,005$). У животных с ЭОИГМ 7 сутки по сравнению с 3 сутками фиксировалось значимое снижение ПМ на 11% ($p = 0,03$) (табл. 2).

Таким образом, у животных с ЭОИГМ на 3 и 7 сутки были зарегистрированы очаговый неврологический дефицит и снижение церебрального кровотока в очаге ишемического повреждения головного мозга, что подтверждалось значимым снижением баллов по шкале Garcia J. H., Placing test и увеличением баллов по Bederson test, а также снижением ПМ.

Применение ректальных суппозитория с МТ на 3 и 7 сутки приводило к уменьшению глубины правостороннего гемипареза и статолокомоторных нарушений. У животных, получавших МТ, по сравнению с животными с ЭОИГМ на 3 сутки регистрировалось значимое увеличение баллов по шкале Garcia J. H. на 53,3% ($p = 0,008$), по Placing test на 50% ($p = 0,016$) и значимое снижение баллов по Bederson test на 50% ($p = 0,029$); на 7 сутки фиксировалось значимое увеличение баллов по шкале Garcia J. H. на 233% ($p < 0,0001$), по Placing test на 325% ($p < 0,0001$) и значимое снижение баллов по Bederson test на 100% ($p < 0,0001$). При введении МТ на 7 сутки, по сравнению с введением на

3 сутки, у животных регистрировалось значимое увеличение баллов по шкале Garcia J. H. на 30,4% ($p = 0,004$), Placing test на 41,7% ($p = 0,002$), значимое снижение баллов по Bederson test на — 100% ($p = 0,003$) (табл. 1).

При оценке микроциркуляции у животных, получавших МТ, по сравнению с животными с ЭОИГМ ПМ на 3 сутки повышался на 12,5% ($p = 0,016$), на 7 сутки на 43,9% ($p = 0,005$). При введении МТ 7 сутки по сравнению с 3 сутками у животных фиксировали значимое повышение ПМ на 13,8% ($p = 0,028$) (табл. 2).

У животных, получавших МТ, по сравнению с ЛО на 3 сутки было зафиксировано снижение баллов по шкале Garcia J. H. на 36,1% ($p < 0,001$), по Placing test — на 36,8% ($p < 0,001$) и значимое увеличение баллов по Bederson test — на 100% ($p = 0,002$); на 7 сутки снижение баллов по шкале Garcia J. H. — на 16,7% ($p < 0,008$), по Placing test на 10,5% ($p < 0,038$) и значимое увеличение баллов по Bederson test на 0% ($p = 0,157$) (табл. 1).

Проведенный корреляционный анализ результатов по шкале Garcia J. H., Placing test и ПМ на 3 и 7 сутки выявил наличие положительной связи, а между показателем Bederson test и ПМ наличие отрицательной связи: уменьшение неврологического дефицита у животных с ЭОИГМ в условиях применения ректальных суппозитория с МТ ассоциировано с повышением ПМ в очаге ишемического повреждения головного мозга (табл. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Можно предположить, что зафиксированный нами неврологический дефицит при ЭОИГМ обусловлен локальным критическим снижением церебрального кровотока в веществе головного мозга и активацией каскада патохимических реакций, включая митохондриальную дисфункцию с последующим энергодефицитом нейронов, активацию окислительного стресса, глутаматергическую эксайтотоксичность, нейровоспаление, приводящие к повреждению нейронов в очаге ишемического повреждения [21]. Применение ректальных суппозитория с МТ приводило к частичному восстановлению неврологического статуса и церебрального кровотока

Таблица 2. Влияние МТ на показатель микроциркуляции при ЭОИГМ (Ме [Q₁; Q₃])

Показатель	Группа 1 (n = 10)		Группа 2		Группа 3	
	3 сутки (n = 10)	7 сутки (n = 10)	3 сутки (n = 10)	7 сутки (n = 10)	3 сутки (n = 10)	7 сутки (n = 10)
Показатель микроциркуляции, пф/ед.	22,11 [20,65; 22,69]	22,11 [20,65; 22,69]	15,51 [15,48; 15,88]*	13,79 [13,49; 14,09]*&	17,45 [17,33; 18,83]*#	19,85 [19,44; 19,90]*#&

Примечание: значимые различия согласно критерию Манна–Уитни обозначены: * — по сравнению с группой 1 ($p < 0,05$), # — по сравнению с группой 2 ($p < 0,05$), & — значимые различия согласно критерию Уилкоксона между 3 и 7 сутками в одной группе ($p < 0,05$).

Таблица 3. Корреляция между показателями неврологического статуса и ПМ при ЭОИГМ в условиях применения ректальных суппозиториях с МТ

Показатели	Показатель микроциркуляции, пф. ед.	
	3 сутки	7 сутки
Шкала Garcia J. H., баллы	$r = 0,63$	$r = 0,67$
Placing test, баллы	$r = 0,77$	$r = 0,64$
Bederson test, баллы	$r = -0,61$	$r = -0,60$

Примечание: r — коэффициент корреляции Спирмена ($r < 0,05$).

в очаге ишемического повреждения, что может быть обусловлено его фармакологическими особенностями и плейотропными эффектами, включая нейропротективный и вазоактивный эффекты. Относительно низкая молекулярная масса МТ (232 г/моль), умеренная степень растворимости в липидах ($\log p = 3$), а также умеренная биодоступность при ректальном пути введения (54–72%) могут обеспечивать его проникновение через гематоэнцефалический барьер и оказывать системное действие на очаг ишемического повреждения и потенциальное проникновение [22, 23]. Полагаем, что МТ, входящий в состав ректальных суппозиториях, проникал в системный кровоток и достигал очага ишемического повреждения головного мозга, оказывая нейропротективное действие. Плейотропные эффекты МТ, обуславливающие его возможный нейропротективный эффект, могут быть связаны с опосредованным действием через специфические мембранные и ядерные рецепторы (MT1, MT2, ROR), а также за счет прямого действия [24]. Связывание МТ с МТ-рецепторами клеток микроглии через ингибирование пути STAT3 способствовало уменьшению синтеза провоспалительных цитокинов в очаге ишемического повреждения и редукции нейровоспаления [25]. Кроме того, МТ мог приводить к подавлению активности NADPH-редуктазы и усилению синтеза глутатионпероксидазы, снижая активность процессов окислительного стресса в очаге ишемического повреждения головного мозга [26]. МТ через фосфорилирование ERK1 усиливал активность 90RSK, которая приводила к инактивации проапоптотического белка Bad, тем самым способствуя повышению выживаемости нейронов в зоне ишемического повреждения [27]. Повышение ПМ в очаге ишемического повреждения головного мозга может быть связано с вазоактивным эффектом МТ, который через повышение активности эндотелиальной NO-синтазы усиливал синтез NO в эндотелиоцитах и повышал церебральный кровоток [28]. Результаты проведенного исследования убедительно свидетельствуют о клинической перспективности применения ректальных суппозиториях с МТ в качестве дополнительной терапии ИИ, особенно у пожилых пациентов и пациентов, находящихся в тяжелом состоянии, где стандартные методы терапии часто имеют ограниченную эффективность. Полученные данные создают прочную основу для дальнейших исследований,

направленных на углубленное изучение механизмов нейропротективного действия МТ через мониторинг динамики биохимических маркеров (MDA, S100 β) и их корреляции с клиническими исходами. Перспективными направлениями научного поиска могут быть следующие: разработка дифференцированных алгоритмов дозирования МТ с учетом индивидуальных особенностей пациентов; оценка отдаленных результатов терапии в период от 6 до 12 месяцев наблюдения; изучение возможностей комбинированной терапии с другими нейропротекторными агентами. Для успешного внедрения данной методики в широкую клиническую практику необходимо проведение масштабных многоцентровых рандомизированных исследований с использованием стандартизированных протоколов оценки. Особое значение приобретает разработка персонализированных подходов к терапии, учитывающих возрастные особенности, коморбидный фон и индивидуальные характеристики церебральной гемодинамики пациентов.

ВЫВОДЫ

Селективная диатермокоагуляция пияльных сосудов головного мозга на 3 и 7 сутки приводила к критическому снижению церебрального кровотока с последующим развитием неврологического дефицита в виде правостороннего гемипареза и стато-локомоторных нарушений, что выражалось в прогрессирующем снижении баллов по шкале Garcia J. H., Placing test, увеличении баллов по Bederson test и снижении ПМ в очаге ишемического повреждения головного мозга. Применение оригинальных ректальных суппозиториях массой 100 мг, содержащих 2,5 мг МТ, каждые 24 ч на протяжении 7 суток приводило к частичному восстановлению неврологического дефицита, что выражалось в повышении баллов по шкале Garcia J. H., Placing test, снижении баллов по Bederson test и увеличению ПМ в очаге ишемического повреждения головного мозга, которые не достигали показателей ЛО. Проведенный корреляционный анализ установил ассоциацию между показателями неврологического статуса и ПМ: уменьшение неврологического дефицита у животных с ЭОИГМ в условиях применения ректальных суппозиториях с МТ ассоциировано с повышением ПМ в очаге ишемического повреждения головного мозга.

Литература

1. Feigin VL, Brainin M, Norrving B, Martins S, Sacco RL, Hacke W, et al. World Stroke Organization (WSO): Global Stroke Fact Sheet 2022. *Int J Stroke*. 2022; 17 (1): 18–29.
2. Игнатъева В. И., Вознюк И. А., Шамалов Н. А., Резник А. В., Виноцкий А. А., Деркач Е. В. Социально-экономическое бремя инсульта в Российской Федерации. *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. Спецвыпуски*. 2023; 123 (8–2): 5–15.
3. Cao Y, Yue X, Jia M, Wang J. Neuroinflammation and anti-inflammatory therapy for ischemic stroke. *Heliyon*. 2023; 9 (7): e17986.
4. Paul S, Candelario-Jalil E. Emerging neuroprotective strategies for the treatment of ischemic stroke: An overview of clinical and preclinical studies. *Exp Neurol*. 2021; 335: 113518.
5. Ma N, Zhang J, Reiter R J, Ma X. Melatonin mediates mucosal immune cells, microbial metabolism, and rhythm crosstalk: A therapeutic target to reduce intestinal inflammation *Med Res Rev*. 2020; 40 (2): 606–32.
6. Ганцгорн Е. В., Хлопонин Д. П., Макляков Ю. С. Патологические основы современной фармакотерапии острой ишемии головного мозга. Место ноотропов и антиоксидантов в нейропротекции. *Медицинский вестник Юга России*. 2013; (2): 4–12.
7. Yang Y, Jiang S, Dong Y, Fan C, Zhao L, Yang X, Li J, et al. Melatonin prevents cell death and mitochondrial dysfunction via a SIRT1-dependent mechanism during ischemic-stroke in mice. *J Pineal Res*. 2015; 58 (1): 61–70.
8. Pallab B, Kumar PA, Sudip P, Ranjana P. Melatonin renders neuroprotection by Protein Kinase C mediated Aquaporin-4 inhibition in animal model of focal cerebral ischemia. *Life Sciences*. 2014; 100 (2): 97–109.
9. Ma Q, Reiter RJ, Chen Y. Role of melatonin in controlling angiogenesis under physiological and pathological conditions. *Angiogenesis*. 2020; 23 (2): 91–104.
10. Qin T, Feng D, Zhou B, Bai L, Yin Y. Melatonin Suppresses LPS-Induced Oxidative Stress in Dendritic Cells for Inflammatory Regulation via the Nrf2/HO-1 Axis. *Antioxidants (Basel)*. 2022; 11 (10): 2012.
11. Khedr EM, Abbass MA, Soliman RK, Radwa KS, Ahmed FZ, Gamea A. Post-stroke dysphagia: frequency, risk factors, and topographic representation: hospital-based study. *Egypt J Neurol Psychiatry Neurosurg*. 2021; 57 (23).
12. Brinkwirth S, Ayobami O, Eckmanns T, Markwart R. Hospital-acquired infections caused by enterococci: a systematic review and meta-analysis, WHO European Region, 1 January 2010 to 4 February 2020. *Euro Surveill*. 2021; 26(45):2001628.
13. Осиков М. В., Ушакова В. А., Грекова И. В., Бойко М. С., Гречишкин М. В., авторы; ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет Минздрава России», патентообладатель. Средство с мелатонином для терапии воспалительных заболеваний кишечника в форме ректальных суппозиториях. Патент РФ № 2819721 07.06.2024.
14. Chen ST, Hsu CY, Hogan EL, Maricq H, Balentine JD. A model of focal ischemic stroke in the rat: reproducible extensive cortical infarction. *Stroke*. 1986; 17 (4): 738–43.
15. Кадомцев Д. В., Пасечникова Е. А., Голубев В. Г. Золетил-ксилазиновый наркоз в экспериментах у крыс. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2015; 5: 56–57.
16. Мирзоян Р. С., Плотников М. Б., Ганьшина Т. С. и др. Методические рекомендации по доклиническому изучению лекарственных средств для лечения нарушений мозгового кровообращения и мигрени. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая*. М.: Гриф и К, 2012: 480–7.
17. Хабриев Р. У., редактор. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*. М.: Медицина, 2005; 832 с.
18. Schallert MT, Whishaw IQ. *The Behavior of the Laboratory Rat: A Handbook with Tests* Oxford University Press. 2004: 129–40.
19. Schaar KL, Brennenman MM, Savitz SI. Functional assessments in the rodent stroke model. *Exp Transl Stroke Med*. 2010; 2 (1): 13.
20. Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, Nishimura MC, Davis RL, Bartkowski H. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination. *Stroke*. 1986; 17 (3): 472–6.
21. Paul S, Candelario-Jalil E. Emerging neuroprotective strategies for the treatment of ischemic stroke: An overview of clinical and preclinical studies. *Exp Neurol*. 2021; 335: 113518.
22. Skinner DC, Malpoux B. High melatonin concentrations in third ventricular cerebrospinal fluid are not due to Galen vein blood recirculating through the choroid plexus. *Endocrinology*. 1999; 140 (10): 4399–405.
23. Tricoire H, et al. Melatonin enters the cerebrospinal fluid through the pineal recess. *Endocrinology*. 2003; 144 (1): 84–90.
24. Liu L, Labani N, Cecon E, Jockers R. Melatonin Target Proteins: Too Many or Not Enough? *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019; 10: 791.
25. Liu ZJ, Ran YY, Qie SY, Gong WJ, Gao FH, Ding ZT, et al. Melatonin protects against ischemic stroke by modulating microglia/macrophage polarization toward anti-inflammatory phenotype through STAT3 pathway. *CNS Neurosci Ther*. 2019; 25 (12): 1353–62.
26. Wang J, Gao S, Lenahan C, Gu Y, Wang X, Fang Y, et al. Melatonin as an Antioxidant Agent in Stroke: An Updated Review. *Aging Dis*. 2022; 13 (6): 1823–44.
27. Zhang C, Ma Y, Zhao Y, Guo N, Han C, Wu Q, et al. Systematic review of melatonin in cerebral ischemia-reperfusion injury: critical role and therapeutic opportunities. *Front Pharmacol*. 2024; 15: 1356112.
28. Aladag MA, Turkoz Y, Parlakpinar H, Ozen H, Egri M, Unal SC. Melatonin ameliorates cerebral vasospasm after experimental subarachnoidal haemorrhage correcting imbalance of nitric oxide levels in rats. *Neurochem Res*. 2009; 34 (11): 1935–44. DOI: 10.1007/s11064-009-9979-7. Epub 2009 May 5. PMID: 19415488.

References

1. Feigin VL, Brainin M, Norrving B, Martins S, Sacco RL, Hacke W, et al. World Stroke Organization (WSO): Global Stroke Fact Sheet 2022. *Int J Stroke*. 2022; 17 (1): 18–29.
2. Ignateva VI, Voznjuk IA, Shamalov NA, Reznik AV, Vinickij AA, Derkach EV. Social'no-ekonomicheskoe bremja insul'ta v Rossijskoj Federacii. *Zhurnal'no-nevrologii i psichiatrii im. S. S. Korsakova. Specvypuski*. 2023; 123 (8–2): 5–15. Russian.
3. Cao Y, Yue X, Jia M, Wang J. Neuroinflammation and anti-inflammatory therapy for ischemic stroke. *Heliyon*. 2023; 9 (7): e17986.
4. Paul S, Candelario-Jalil E. Emerging neuroprotective strategies for the treatment of ischemic stroke: An overview of clinical and preclinical studies. *Exp Neurol*. 2021; 335: 113518.
5. Ma N, Zhang J, Reiter R J, Ma X. Melatonin mediates mucosal immune cells, microbial metabolism, and rhythm crosstalk: A therapeutic target to reduce intestinal inflammation *Med Res Rev*. 2020; 40 (2): 606–32.
6. Gancgorn EV, Hloponin DP, Makljakov YuS. Patofiziologicheskie osnovy sovremennoj farmakoterapii ostroj ishemii golovnog mozga. Mesto nootropov i antioksidantov v nejroprotekcii. *Medicinskij vestnik Juga Rossii*. 2013; (2): 4–12. Russian.
7. Yang Y, Jiang S, Dong Y, Fan C, Zhao L, Yang X, Li J, et al. Melatonin prevents cell death and mitochondrial dysfunction via a SIRT1-dependent mechanism during ischemic-stroke in mice. *J Pineal Res*. 2015; 58 (1): 61–70.
8. Pallab B, Kumar PA, Sudip P, Ranjana P. Melatonin renders

- neuroprotection by Protein Kinase C mediated Aquaporin-4 inhibition in animal model of focal cerebral ischemia. *Life Sciences*. 2014; 100 (2): 97–109.
9. Ma Q, Reiter RJ, Chen Y. Role of melatonin in controlling angiogenesis under physiological and pathological conditions. *Angiogenesis*. 2020; 23 (2): 91–104.
 10. Qin T, Feng D, Zhou B, Bai L, Yin Y. Melatonin Suppresses LPS-Induced Oxidative Stress in Dendritic Cells for Inflammatory Regulation via the Nrf2/HO-1 Axis. *Antioxidants (Basel)*. 2022; 11 (10): 2012.
 11. Khedr EM, Abbass MA, Soliman RK, Radwa KS, Ahmed FZ, Gamea A. Post-stroke dysphagia: frequency, risk factors, and topographic representation: hospital-based study. *Egypt J Neurol Psychiatry Neurosurg*. 2021; 57 (23).
 12. Brinkwirth S, Ayobami O, Eckmanns T, Markwart R. Hospital-acquired infections caused by enterococci: a systematic review and meta-analysis, WHO European Region, 1 January 2010 to 4 February 2020. *Euro Surveill*. 2021; 26(45):2001628.
 13. Osikov MV, Ushakova VA, Grekova IV, Bojko MS, Grechishkin MV, avtory; FGBOU VO «Juzhno-Ural'skij gosudarstvennyj medicinskij universitet Minzdrava Rossii», patentoobladatel'. Sredstvo s melatoninom dlja terapii vospalitel'nyh zabolevanij kishechnika v forme rektal'nyh suppozitoriev. Patent RF № 2819721 07.06.2024. Russian.
 14. Chen ST, Hsu CY, Hogan EL, Maricq H, Balentine JD. A model of focal ischemic stroke in the rat: reproducible extensive cortical infarction. *Stroke*. 1986; 17 (4): 738–43.
 15. Kadomcev DV, Pasechnikova EA, Golubev VG. Zoletil-ksilazinovyy narkoz v jeksperimentah u kryss. *Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij*. 2015; 5: 56–57. Russian.
 16. Mirzozan RS, Plotnikov MB, Gan'shina TS, i dr. Metodicheskie rekomendacii po doklinicheskomu izucheniju lekarstvennyh sredstv dlja lechenija narushenij mozgovogo krovoobrashhenija i migreni. Rukovodstvo po provedeniju doklinicheskikh issledovanij lekarstvennyh sredstv. Chast' pervaja. M.: Grif i K, 2012: 480–7. Russian.
 17. Habriev RU, redaktor. Rukovodstvo po jeksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniju novyh farmakologicheskikh veshhestv. M.: Medicina, 2005; 832 s. Russian.
 18. Schallert MT, Whishaw IQ. The Behavior of the Laboratory Rat: A Handbook with Tests Oxford University Press. 2004: 129–40.
 19. Schaar KL, Brenneman MM, Savitz SI. Functional assessments in the rodent stroke model. *Exp Transl Stroke Med*. 2010; 2 (1): 13.
 20. Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, Nishimura MC, Davis RL, Bartkowski H. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination. *Stroke*. 1986; 17 (3): 472–6.
 21. Paul S, Candelario-Jalil E. Emerging neuroprotective strategies for the treatment of ischemic stroke: An overview of clinical and preclinical studies. *Exp Neurol*. 2021; 335: 113518.
 22. Skinner DC, Malpoux B. High melatonin concentrations in third ventricular cerebrospinal fluid are not due to Galen vein blood recirculating through the choroid plexus. *Endocrinology*. 1999; 140 (10): 4399–405.
 23. Tricoire H, et al. Melatonin enters the cerebrospinal fluid through the pineal recess. *Endocrinology*. 2003; 144 (1): 84–90.
 24. Liu L, Labani N, Cecon E, Jockers R. Melatonin Target Proteins: Too Many or Not Enough? *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019; 10: 791.
 25. Liu ZJ, Ran YY, Qie SY, Gong WJ, Gao FH, Ding ZT, et al. Melatonin protects against ischemic stroke by modulating microglia/macrophage polarization toward anti-inflammatory phenotype through STAT3 pathway. *CNS Neurosci Ther*. 2019; 25 (12): 1353–62.
 26. Wang J, Gao S, Lenahan C, Gu Y, Wang X, Fang Y, et al. Melatonin as an Antioxidant Agent in Stroke: An Updated Review. *Aging Dis*. 2022; 13 (6): 1823–44.
 27. Zhang C, Ma Y, Zhao Y, Guo N, Han C, Wu Q, et al. Systematic review of melatonin in cerebral ischemia-reperfusion injury: critical role and therapeutic opportunities. *Front Pharmacol*. 2024; 15: 1356112.
 28. Aladag MA, Turkoz Y, Parlakpınar H, Ozen H, Egri M, Unal SC. Melatonin ameliorates cerebral vasospasm after experimental subarachnoidal haemorrhage correcting imbalance of nitric oxide levels in rats. *Neurochem Res*. 2009; 34 (11): 1935–44. DOI: 10.1007/s11064-009-9979-7. Epub 2009 May 5. PMID: 19415488.

СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ МРНК ВАКЦИН ПРОТИВ *M. TUBERCULOSIS* НА ОСНОВЕ ЛИНЕЙНЫХ И КОЛЬЦЕВЫХ РНК

А. С. Киршина¹, Г. С. Шепелькова², А. С. Хлебникова¹, А. А. Маслов¹, А. В. Козлова¹, Д. А. Кунык¹, В. В. Еремеев², Р. А. Иванов¹, В. В. Решетников¹✉

¹ Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», Сириус, Россия

² Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза, Москва, Россия

Успехи вакцинных препаратов на основе мРНК против вирусных инфекций побудили многих исследователей к разработке мРНК-вакцин против бактериальных инфекций. Разработка новой вакцины против туберкулеза является актуальной задачей, поскольку единственная одобренная к использованию вакцина BCG, хотя и снижает риск развития тяжелых форм заболевания, не является достаточно эффективной для предотвращения инфицирования. Целью исследования было сравнить две мРНК-вакцины против туберкулеза на основе классической линейной мРНК (mRNA-MTB-mEp-5-1) и на основе кольцевой мРНК (circRNA-MTB-mEp-5-1) по иммуногенности и способности защищать мышей I/St от заражения *M. tuberculosis*. Эффективность мРНК-вакцин в составе с липидными наночастицами сравнивали с эффективностью BCG. Результаты свидетельствуют о том, что иммунизация мРНК-вакциной на основе линейной мРНК привела к формированию клеточного и гуморального иммунного ответа (OD IgG = 0,36 ± 0,12), который был менее выражен, чем после вакцинации BCG (OD IgG = 0,54 ± 0,14). В то же время иммунизация мРНК-вакциной и BCG обеспечила сопоставимое снижение бактериальной нагрузки в легких и селезенке экспериментальных мышей (КОЕ в легочной ткани BCG: 4,00 × 10⁵ ± 2,13 × 10⁵, *p* = 0,0068; линРНК: 4,72 × 10⁵ ± 3,44 × 10⁵, *p* = 0,0059; LNP: 4,91 × 10⁵ ± 3,89 × 10⁵, ns; PBS: 4,01 × 10⁶ ± 1,69 × 10⁶) и повысила их выживаемость после заражения *M. tuberculosis*. Иммунизация вакциной на основе кольцевой мРНК привела к формированию только гуморального иммунитета (OD IgG = 0,52 ± 0,13) и не обеспечила защиту после заражения *M. tuberculosis* (КОЕ в легких колРНК: 2,12 × 10⁶ ± 5,30 × 10⁵, *p* = 0,85). Таким образом, в наших исследованиях противотуберкулезные вакцины на основе кольцевых мРНК уступают в эффективности препаратам на основе линейных РНК.

Ключевые слова: мРНК-вакцина, кольцевые мРНК, туберкулез, иммуногенность, протективный иммунитет

Финансирование: исследование выполнено в рамках государственного задания ФГБНУ «ЦНИИТ», тема НИР FURE-2025-0018.

Благодарности: авторы выражают благодарность сотруднику АНО ВО «Университет «Сириус» О. В. Заборовой за формулировку мРНК в липидные наночастицы, а также сотруднице лаборатории биотехнологии ФГБНУ «ЦНИИТ» Е. И. Чебанюк за помощь в работе с животными и постановке экспериментов на линейных мышах.

Вклад авторов: А. С. Киршина, Хлебникова А. С. — подготовка мРНК-вакцины, планирование эксперимента, написание рукописи; А. В. Козлова, Д. А. Кунык, А. А. Маслов — подготовка мРНК-вакцины; Г. С. Шепелькова — постановка экспериментов, анализ результатов; В. В. Еремеев, Р. А. Иванов — планирование эксперимента, редактирование рукописи; В. В. Решетников — подготовка мРНК-вакцины, планирование эксперимента, редактирование рукописи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ «ЦНИИТ» (протокол № 3/2 от 11 мая 2022 г.), проведено в соответствии с Приказом Минздрава № 755 и Руководством Управления по охране лабораторных животных А5502-01.

✉ **Для корреспонденции:** Василий Владимирович Решетников

Олимпийский пр-т, д. 1, г. Сочи, 354340; Россия; reshetnikov.vv@talantiuspeh.ru, Еремеев Владимир Витальевич, Яузская ал. д. 2, г. Москва, 107564; Россия; yeremeev56@mail.ru

Статья получена: 22.07.2025 **Статья принята к печати:** 17.08.2025 **Опубликована онлайн:** 26.08.2025

DOI: 10.24075/vrgmu.2025.040

Авторские права: © 2025 принадлежат авторам. **Лицензиат:** РНИМУ им. Н. И. Пирогова. Статья размещена в открытом доступе и распространяется на условиях лицензии Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

COMPARISON OF THE EFFICACY OF MRNA VACCINES AGAINST *M. TUBERCULOSIS* BASED ON LINEAR AND CIRCULAR RNAs

Kirshina AS¹, Shepelkova GS², Khlebnikova AS¹, Maslov AA¹, Kozlova AV¹, Kunyk DA¹, Yeremeev VV², Ivanov RA¹, Reshetnikov VV¹ ✉

¹ Sirius University of Science and Technology, Sirius, Russia

² Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, Russia

The success of mRNA-based vaccine formulations against viral infections motivated many researchers to develop mRNA vaccines against bacterial infections. The development of new anti-tuberculosis vaccine is an urgent task since the only approved BCG vaccine is not effective enough in terms of infection prevention, despite the fact that it reduces the risk of severe disease. The study aimed to compare two anti-tuberculosis mRNA vaccines based on the classic linear mRNA (mRNA-MTB-mEp-5-1) and circular RNA (circRNA-MTB-mEp-5-1) by immunogenicity and the capability of protecting I/St mice against *M. tuberculosis* infection. The efficacy of mRNA vaccines in the formulations with lipid nanoparticles was compared with the BCG efficacy. The findings suggest that immunization with the mRNA vaccine based on the linear mRNA resulted in the cell-based and humoral immune response (OD IgG = 0.36 ± 0.12) that was less pronounced than after BCG vaccination (OD IgG = 0.54 ± 0.14). At the same time, immunization with the mRNA vaccine and BCG ensured comparable reduction of bacterial load in the lung and spleen of experimental mice (CFU in lung tissue for BCG: 4.00 × 10⁵ ± 2.13 × 10⁵, *p* = 0.0068; mRNA: 4.72 × 10⁵ ± 3.44 × 10⁵, *p* = 0.0059; LNP: 4.91 × 10⁵ ± 3.89 × 10⁵, ns; PBS: 4.01 × 10⁶ ± 1.69 × 10⁶) and increased survival of mice after getting infected with *M. tuberculosis*. Immunization with the vaccine based on the circular RNA resulted in developing humoral immunity only (OD IgG = 0.52 ± 0.13) and did not ensure protection after getting infected with *M. tuberculosis* (CFU in the lung for circRNA: 2.12 × 10⁶ ± 5.30 × 10⁵, *p* = 0.85). Thus, in our studies, anti-tuberculosis vaccines based on circular RNAs are inferior in effectiveness to formulations based on linear RNAs.

Keywords: mRNA vaccine, circular RNA, tuberculosis, immunogenicity, protective immunity

Funding: the study was conducted within the framework of the State Assignment of the Central Tuberculosis Research Institute, R&D project: FURE-2025-0018.

Acknowledgements: the authors express their gratitude to O.V. Zaborova, staff member of the Sirius University of Science and Technology, for formulation of mRNA into lipid nanoparticles and E.I. Chebanyuk, staff member of the biotechnology laboratory of the Central Tuberculosis Research Institute, for assistance in animal handling and setting the experiments involving lineal mice.

Author contribution: Kirshina AS, Khlebnikova AS — mRNA vaccine preparation, planning the experiment, manuscript writing; Kozlova AV, Kunyk DA, Maslov AA — mRNA vaccine preparation; Shepelkova GS — experimental procedure, data analysis; Yeremeev VV, Ivanov RA — planning the experiment, manuscript editing; Reshetnikov VV — mRNA vaccine preparation, planning the experiment, manuscript editing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Central Tuberculosis Research Institute (protocol No. 3/2 dated 11 May 2022) and conducted in accordance with the Order of the Ministry of Health No. 755 and the Guidelines issued by the Office of Laboratory Animal Welfare (A5502-01).

✉ **Correspondence should be addressed:** Vasily V. Reshetnikov

Olimpiyskiy prospekt, 1, Sochi, 354340, Russia; reshetnikov.vv@talantiuspeh.ru, Vladimir V. Yeremeev, Yauzskaya alleya, 2, Moscow, 107564; Russia; yeremeev56@mail.ru

Received: 22.07.2025 **Accepted:** 17.08.2025 **Published online:** 26.08.2025

DOI: 10.24075/brsmu.2025.040

Copyright: © 2025 by the authors. **Licensee:** Pirogov University. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Туберкулез (ТБ) — это высококонтагиозное заболевание, вызываемое бактерией *Mycobacterium tuberculosis*, которое и на сегодняшний день остается первой причиной смерти от инфекционных заболеваний. В 2023 г. было зарегистрировано 10,8 млн случаев заболевания ТБ и 1,25 млн смертей от данной инфекции [1]. Профилактика туберкулеза осложняется частым бессимптомным течением начала заболевания и поздней манифестацией, что затрудняет отслеживание эпидемиологической ситуации. Дополнительные проблемы связаны с распространением микобактерий, устойчивых к противомикробным препаратам. ТБ до сих пор остается опасным заболеванием, и поиск эффективных способов профилактики и лечения является актуальной задачей.

Разработка и внедрение новой противотуберкулезной вакцины являются важнейшим шагом на пути к элиминации этой опасной инфекции. Вакцина BCG не рекомендована Всемирной организацией здравоохранения для профилактики туберкулеза у взрослых из-за риска развития нежелательных побочных реакций. К недостаткам BCG можно также отнести вариабельную эффективность в разных географических регионах, гетерогенность штаммов и низкую эффективность против наиболее распространенной формы туберкулеза — туберкулеза легких [2]. Таким образом, существует острая необходимость в создании новых препаратов, способных предотвратить развитие ТБ во всех возрастных группах. В настоящее время около 15 вакцин находятся в стадии клинической разработки на разных этапах: от I до III фазы клинических испытаний [3]. Все они представляют собой разнообразные типы препаратов: на основе вирусных векторов, инактивированные микобактерии, живые аттенуированные микобактерии, субъединичные белковые и мРНК-вакцины.

мРНК-вакцины стали активно использовать благодаря успеху вакцин RNA-1273 (Moderna) и BNT162b2 (Pfizer) против SARS-CoV2 [4]. Данный подход в вакцинации обладает целым рядом преимуществ по сравнению с другими вариантами иммунизации — низкой стоимостью производства, быстрой разработкой, высокой эффективностью, неинфекционностью и отсутствием интеграции в геном. В то же время опыт применения мРНК-вакцин против инфекционных заболеваний, вызванных бактериями, ограничен [5]. К тому же не все мРНК-препараты высокоэффективны, низкая стабильность РНК в клетке приводит к преждевременной деградации РНК, снижению трансляции целевого белка [6]. Как одно из возможных путей решения этих проблем рассматривают использование альтернативных платформ мРНК, таких как самоамплифицирующиеся или кольцевые РНК.

Кольцевые РНК были открыты в 1980-х гг., и с тех пор привлекли к себе пристальное внимание своими особенностями. В отличие от линейных мРНК, препараты на основе кольцевых РНК более устойчивы к деградации, поскольку не обладают свободными 5'- или 3'-концами, по которым идет протеолитическое расщепление [7]. Кроме того, кольцевые РНК не подвержены механизмам деградации, таким как нонсенс-опосредованный распад мРНК (англ. nonsense-mediated mRNA decay, NMD) или распад мРНК без стоп-кодона (англ. non-stop decay, NSD) [8]. Кольцевые РНК транслируются с помощью IRES (от англ. internal ribosome entry site) — опосредованного механизма, который преимущественно активируется в условиях клеточного стресса при ингибировании кэп-зависимой трансляции, и обеспечивается рекрутированием так называемых IRES-transacting factors (ITAF) вместе с eIF и eEF [9]. В настоящее время не ведутся

клинические испытания противотуберкулезных вакцин на основе кольцевой РНК [3]. В то же время препараты на основе кольцевых РНК показали высокую эффективность в экспериментальных моделях вирусных заболеваний [10, 11], и уже сейчас проходят тестирование в клинических испытаниях препаратов против ксеростомии, вызванной радиацией [NCT06714253] и SARS-CoV-2 [NCT06205524]. Мы предполагаем, что эти особенности кольцевых РНК могут позволить рассматривать препараты на основе кольцевых РНК как перспективную платформу для будущих вакцин против туберкулеза, поэтому целью нашего исследования было оценить эффективность противотуберкулезной вакцины на основе кольцевой РНК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные

Эксперименты проводили на самках мышей инбредных линий C57BL/6J (B6) и I/StSnEgYCit (I/St) из питомника ФГБНУ «ЦНИИТ». В исследование включали животных в возрасте 2–4 месяцев и массой 20–25 г. Линии поддерживали путем братско-сестринских скрещиваний, предоставляли доступ к корму и воде *ad libitum*. В общей сложности использовали 25 самок B6 и 75 самок I/St.

Экспериментальный дизайн

Для работы сформировали по 5 экспериментальных групп для каждой из линий мышей: для мышей B6 (по 5 животных в группе) и для мышей I/St (по 15 животных в группе).

1. Группа с двукратным внутримышечным введением мРНК-вакцины mRNA-MTB-mEp5-1 в дозе 5 мкг/мышь с интервалом в 4 недели между введениями.

2. Группа с двукратным внутримышечным введением мРНК-вакцины circRNA-MTB-mEp5-1 в дозе 5 мкг/животное с интервалом в 4 недели между введениями.

3. Группа с однократным подкожным введением BCG в дозе 1×10^5 КОЕ/мышь (за 5 недель до забора тканей).

4. Группа контроля с двукратным внутримышечным введением липидных наночастиц без мРНК (LNP) в дозе, эквивалентной с введением в группах I–II, с интервалом в 4 недели между введениями.

5. Группа контроля с двукратным внутримышечным введением фосфатного буфера (PBS) с интервалом в 4 недели между введениями.

Мышей линии B6 использовали для оценки Т-клеточного ответа (ELISpot), а также для оценки титра IgG к антигенам *M. tuberculosis*.

Для оценки протективного иммунного ответа использовали мышей линии I/St, так как мыши этой линии проявляют повышенную чувствительность к туберкулезной инфекции [12]. Мышей линии I/St через 4 недели после второй вакцинации мРНК-вакцинами / через 5 недель после вакцинации BCG внутривенно инфицировали вирулентным штаммом *M. tuberculosis*. Через 50 дней после инфицирования у данных мышей оценивали микобактериальную нагрузку селезенки и легких (5 мышей в каждой группе), а также динамику гибели животных после инфицирования (10 мышей в каждой группе).

Получение мРНК-вакцин

Мультиэпитопная мРНК-вакцина MTB-mEp5-1 была подробно описана ранее [13]. Для вакцины на основе кольцевой РНК circMTB-mEp5-1 кодирующая последовательность была

идентична MTB-mEp5-1. Кассета для колРНК содержала интроны I типа из *Anabaena* (на 5'- и 3'-концах), плечи гомологии, спейсеры, IRES I типа (CVB3). Конструкция была также собрана с помощью метода ПЦР и клонирована в pSmart (Lucigen, США) по сайтам эндонуклеаз рестрикции *EcoRI* и *AhlI*. Последовательность кольцевой мРНК MTB-mEp5-1 представлена в приложении.

Синтез РНК проводили с использованием набора mRNA-20 («Биолабмикс», Россия) с добавлением пирофосфатазы (NEB, США) и ингибитора РНКаз («Биолабмикс», Россия). Для *in vitro* транскрипции линейной РНК был использован синтетический аналог кэпа m27,3'-OGpppAmG («Биолабмикс», Россия). Для получения кольцевой РНК после завершения транскрипции в реакционную смесь добавляли гуанозинтрифосфат (GTP) до конечной концентрации 2 мМ («Биолабмикс», Россия) для индукции процесса кольцевания. Смесь инкубировали при 55 °C в течение 15 мин, охлаждали на льду в течение 5 мин и очищали на магнитных частицах (VAHTS RNA Clean Beads, Китай). Для удаления линейных форм РНК в препарате кольцевой РНК образец подвергали обработке РНКазой R (Abcam, США). Для этого РНК нагревали при 70 °C в течение 3 мин, затем быстро охлаждали на льду (5 мин). После этого добавляли 0,5 мкл РНКазы R (Abcam, США) на 20 мкг РНК и 10× буфер РНКазы R и инкубировали при 37 °C в течение 7 мин, по истечении которых добавляли еще 0,5 мкл РНКазы R, инкубировали еще 7 мин при 37 °C и очищали на магнитных частицах (VAHTS RNA Clean Beads, Китай).

По завершении *in vitro* транскрипции матрицу ДНК удаляли обработкой 2 ед. а. на 1 мкг ДНК ДНКазы I (NEB, США) при температуре 37 °C в течение 15 мин. Очистку РНК проводили с использованием магнитных частиц (VAHTS RNA Clean Beads, Китай) согласно инструкции производителя. Качество РНК оценивали капиллярным электрофорезом (Qsep1-Plus, BiOptic, Тайвань).

Формуляцию мРНК в липидные наночастицы осуществляли с помощью микрофлюидного картриджа на приборе NanoAssemblr™ Benchtop, как описано ранее [14]. РНК смешивали с раствором этанола липидной смеси в микрофлюидном картридже, водные и этанольные фазы смешивали в соотношении 3 : 1 по объему. Пятикомпонентная липидная смесь состояла из ионизированного липидоидного ALC-0315 (Sinoprep, Xiamen, Китай), SM-102 (Sinoprep, Xiamen, Китай), DSPC (Avanti Polar Lipids, США), холестерина (Merck Millipore, США) и DMG PEG-2000 (Merck Millipore, США) в молярном соотношении (%) 23,15 : 23,15 : 9,4 : 42,7 : 1,6. Частицы были сконцентрированы и стерилизованы с помощью PES-мембраны с диаметром пор 0,22 мкм. Качество полученных LNP анализировали с использованием трех параметров: размер частиц, индекс полидисперсности (PDI) (Zetasizer Ultra ZSP; Malvern PanalityCal, США) и процента загрузки мРНК в частицы. Размер частиц для образца MTB-mEp5-1 — 90,5 нм, индекс полидисперсности — 0,22. Для препарата circMTB-mEp5-1 гидродинамический диаметр был равен 85,7 нм, индекс полидисперсности — 0,19. Уровень загрузки РНК был более 90% в обоих препаратах. До момента введения препарата липидные наночастицы хранились при +4 °C не более 2 недель.

Оценка Т-клеточного ответа: определение количества IFN γ -продуцирующих клеток

Уровень протективного Т-клеточного иммунного ответа у мышей линии В6 оценивали по количеству выделенных

из селезенки клеток, секретирующих IFN γ в ответ на стимуляцию микобактериальными антигенами методом ELISpot при помощи наборов Mouse IFN γ ELISpot Set (BD; США) и AEC Substrate Set (BD; США) в соответствии с рекомендациями производителя [15]. Соникат (ультразвуковой дезинтегра́т) *M. tuberculosis* в дозе 10 мкг/мл использовали в качестве источника антигенов микобактерий. Соникат для работы был любезно предоставлен В. Г. Авдиенко. Для его получения микобактерии выращивали в синтетической среде Сотона в течение 28 дней при 37 °C. Ультразвуковой дезинтегра́т получали из отмытой бактериальной массы на ультразвуковом дезинтеграторе MSE по методике, описанной ранее В. Г. Авдиенко и соавторами [16].

Оценка гуморального иммунитета: определение титра иммуноглобулинов IgG-класса к соникату *M. tuberculosis*

В образцах сыворотки крови экспериментальных животных определяли титр иммуноглобулинов IgG-класса к соникату *M. tuberculosis*. Сыворотки крови экспериментальных мышей В6 титровали в фосфатно-солевом буфере (PBS) от 1 : 50 до 1 : 400. Интенсивность гуморального ответа оценивали по оптической плотности (OD) по ранее описанной методике [17].

Оценка протективного эффекта вакцинации

Для индукции экспериментальной туберкулезной инфекции через 4 недели после второй дозы мРНК-вакцины мышей I/St внутривенно инфицировали вирулентным штаммом *M. tuberculosis* H37Rv (Pasteur) из коллекции ФГБНУ «ЦНИИТ» в дозе 5×10^5 КОЕ на мыш. Вакцинацию BCG проводили за 5 недель до инфицирования подкожно в дозе 1×10^5 КОЕ/мыш. Эксперименты по оценке выживаемости после заражения *M. tuberculosis* завершили на 111-й день после инфицирования.

Определение количества микобактерий в органах зараженных животных

Определение микобактериальной нагрузки легочной ткани и селезенки проводили на 50-й день после инфицирования (по 5 животных в группе). Для этого органы гомогенизировали в 2 мл физиологического раствора. Десятикратные разведения гомогенатов высевали на агар Мидлбрука 7H10 (HiMedia Laboratories LLC, США) (по 50 мкл/чашка Петри). Через 18–21 суток подсчитывали колонии и рассчитывали КОЕ/орган по формуле: $N = 2N_1 \times P / 0,05$, где N — КОЕ в органе; N_1 — число колоний на чашке; P — разведение.

Статистический анализ

Статистическую обработку данных проводили, используя двухфакторный дисперсионный анализ с поправкой Тьюки для множественных сравнений для оценки титра IgG. Для данных анализа ELISpot и для данных по бактериальной нагрузке легких и селезенки иммунизированных мышей после инфицирования *M. tuberculosis* был проведен тест Данна как пост-хок-анализ к критерию Краскела–Уоллиса. Общую выживаемость оценивали методом Каплана–Мейера. Значимость различий в общей выживаемости рассчитывали с помощью логарифмического критерия рангов

Мантеля–Кокса. Различия между экспериментальными группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Анализ данных и их визуализацию производили с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 10.4.1 (GraphPad Software, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка иммуногенности противотуберкулезных мРНК-вакцин

Мы оценили эффективность двух различных противотуберкулезных РНК-вакцин с последовательностью антигена МТВ-мЕр-5-1 на основе линейной и кольцевой РНК. Вакцины МТВ-мЕр-5-1 и circMTB-мЕр-5-1 (рис. 1А) в составе с липидными наночастицами (LNP) были протестированы на способность активировать гуморальный (рис. 1В) и клеточный иммунные ответы (рис. 1Г) в сравнении с BCG-вакциной и контрольными группами (PBS и LNP). При иммунизации животных LNP-частицами, не содержащими мРНК, результаты исследований достоверно не отличались от таковых в группе мышей, получивших PBS.

Наиболее высокие титры антимикобактериальных IgG выявлены у групп мышей, вакцинированных BCG и circMTB-мЕр-5-1 ($p < 0,001$ для большинства разведений по сравнению с контролем; см. таблицу), при этом между BCG и circRNA-MTB-мЕр уровень IgG был сопоставим (рис. 1В; таблица). После иммунизации МТВ-мЕр-5-1 титры IgG повышались менее выражено, увеличение титра иммуноглобулинов IgG-класса по сравнению с невакцинированными животными было обнаружено лишь при разведении сыворотки 1 : 50 ($p = 0,001$). Уровень антимикобактериальных IgG после иммунизации МТВ-мЕр-5-1 уступал как по сравнению с circMTB-мЕр-5-1, так и по сравнению с BCG почти во всех вариантах разведения сыворотки (рис. 1В; таблица). Таким образом, обе мРНК-вакцины приводили к формированию гуморального иммунного ответа против *M. tuberculosis*, однако в случае с кольцевой РНК-вакциной гуморальный иммунитет был более выражен и сопоставим с уровнем иммунитета, наблюдаемым после вакцинации BCG.

Для определения способности противотуберкулезных вакцин на основе различных РНК-платформ активировать специфический клеточный иммунный ответ были оценены уровни IFN γ -продуцирующих клеток (ИПК) селезенки после стимуляции соникатом микобактерий (рис. 1Г; таблица). Наиболее высокий уровень ИПК был обнаружен у группы мышей, вакцинированных BCG (более 100 пятен, $p < 0,001$ по сравнению с контролем; таблица). Вакцинация МТВ-мЕр-5-1 также приводила к увеличению уровня ИПК по сравнению с контролем (более 20 пятен, $p = 0,026$; таблица). У мышей, иммунизированных circMTB-мЕр-5-1, уровни ИПК статистически не отличались от контрольных групп.

Таким образом, среди вакцин на основе РНК лишь circMTB-мЕр-5-1 была способна вызывать гуморальный ответ, сопоставимый с наблюдаемым при иммунизации BCG. Однако вакцинация данной вакциной не приводила к формированию Т-клеточного иммунитета. В то время как иммунизация линейной мРНК-вакциной МТВ-мЕр-5-1 приводила к формированию умеренного гуморального и клеточного иммунного ответа против микобактериальных антигенов.

Оценка протективности противотуберкулезных мРНК-вакцин

Для вакцины одним из наиболее важных критериев является ее способность формировать протективный иммунный ответ после заражения. Было проведено сравнительное исследование эффективности двух противотуберкулезных вакцин на основе разных РНК-платформ по способности защищать мышей после заражения *M. tuberculosis* (рис. 2А). На рис. 2Б и в таблице показано, что вакцинация МТВ-мЕр-5-1 и BCG способна обеспечивать снижение количества микобактерий в легких и селезенке на 50-й день после заражения по сравнению с контролем ($p = 0,007$ и $p = 0,006$ в легких, $p = 0,009$ и $p = 0,022$ в селезенке соответственно). Для мышей, провакцинированных circMTB-мЕр-5-1, после заражения статистически достоверных снижений бактериальной нагрузки в легких и селезенке по сравнению с контролем обнаружено не было.

При оценке динамики гибели мышей после инфицирования иммунизация BCG или МТВ-мЕр-5-1 обеспечивала выживаемость 8 и 7 животных из 10 в течение 111 дней после заражения *M. tuberculosis* ($p < 0,001$; таблица). Выживаемость мышей в группе контроля составляла 20%. В группе мышей, получивших circRNA-MTB-мЕр, выживаемость после инфицирования статистически не отличается от контроля, тем не менее количество выживших животных в данной группе составляло 50% (рис. 2В).

Таким образом, лишь вакцинация МТВ-мЕр-5-1 за счет снижения бактериальной нагрузки в легких и селезенке и увеличения выживаемости зараженных мышей приводила к формированию протективного иммунного ответа. Наблюдаемый протективный эффект от вакцинации данной мРНК-вакциной был сопоставим с таковым после вакцинации BCG.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В данном исследовании были оценены иммуногенные и протективные свойства вакцин на основе линейной и кольцевой РНК против *M. tuberculosis* в сравнении с вакциной BCG. Результаты демонстрируют, что иммунизация линейной мРНК-вакциной МТВ-мЕр-5-1 приводила к формированию адаптивного и протективного иммунного ответа, снижала бактериальную нагрузку и в легких, и в селезенке и увеличивала выживаемость зараженных мышей. Иммуногенность МТВ-мЕр-5-1 была ниже, чем после иммунизации BCG, но протективная эффективность была сопоставима с наблюдаемой после BCG.

Вакцина circMTB-мЕр-5-1 на основе кольцевой РНК оказалась менее эффективной. Наши результаты показали, что circMTB-мЕр-5-1 способна индуцировать выраженный гуморальный ответ, сопоставимый с наблюдаемым после вакцинации BCG. Однако иммунизация circMTB-мЕр-5-1 не приводила к формированию IFN γ -опосредованного Т-клеточного ответа и не обеспечивала защиту животных от заражения *M. tuberculosis*. Эти результаты показывают, что для обеспечения защиты от патогена недостаточно формирования только гуморального иммунитета, необходимо также формирование Т-клеточного иммунитета, что согласуется с результатами предыдущих исследований по противотуберкулезным вакцинам на основе нуклеиновых кислот [2].

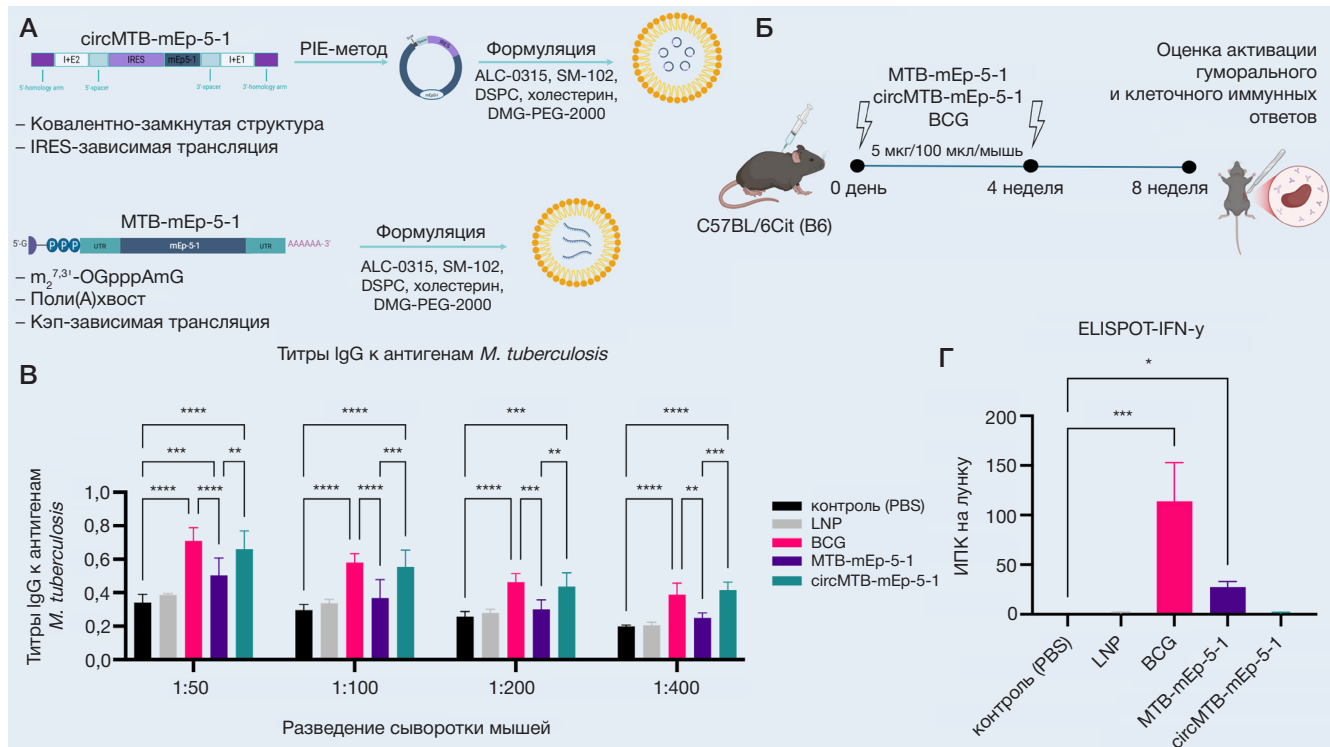


Рис. 1. Оценка иммуногенности мРНК-вакцин. **А.** Структура противотуберкулезных РНК-вакцин с последовательностью антигена MTB-mEp-5-1 на основе линейной и кольцевой РНК. **Б.** Схема постановки эксперимента. **В.** Титр иммуноглобулинов IgG-класса к антигенам *M. tuberculosis* в сыворотке крови мышей после иммунизации противотуберкулезными вакцинами. **Г.** Различия в количестве ИПК в селезенке мышей, вакцинированных различными вариантами мРНК-вакцин. Данные представлены как среднее $\pm$ стандартное отклонение. Мышей в группе $n = 5$. * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$; **** — $p < 0,0001$.

По всей видимости, различия в эффективности мРНК-вакцин связаны с механизмами, лежащими в основе динамики трансляции антигена. Кольцевые РНК отличаются от линейных РНК повышенной стабильностью [7]. Высокая стабильность колРНК способствует длительной продукции антигена, что может приводить к выраженному гуморальному ответу, но скорость трансляции антигена за счет IRES намного ниже, чем скорость трансляции по кэп-зависимому пути с линейной РНК [18], приводя к низкому уровню экспрессии антигена, чего может быть недостаточно для формирования клеточного и протективного иммунитета. Роль Т-клеточного иммунитета важна при формировании гранулемы, поэтому основные усилия исследований ранее были сосредоточены именно на разработке вакцин, приводящих к формированию выраженного клеточного иммунного ответа [19]. Тем не менее в ряде недавно проведенных исследований на грызунах, нечеловекообразных приматах и людях было показано, что и индукция гуморального иммунитета важна для эффективности вакцин [20]. Это согласуется с нашими данными, полученными по линейной РНК, которая вызвала умеренный гуморальный и клеточный ответ, обеспечивший формирование протективного ответа.

Еще одним возможным объяснением формирования более выраженного гуморального иммунитета после иммунизации circMTB-mEp-5-1 является возможная чрезмерная активация врожденного иммунитета после вакцинации. В составе кольцевых РНК, помимо вирусной последовательности IRES, присутствуют и бактериальные последовательности — интрон-экзонные регионы, которые являются необходимыми элементами для кольцевания РНК при использовании самосплайсирующихся интронов 1 группы [21]. В исследовании Chen et al. показано, что экзонгенная кольцевая РНК, полученная с использованием

самосплайсирующихся интронов 1 группы, способна активировать рецепторы врожденного иммунного ответа (RIG-1, MDA5, OAS1, OASL) в отличие от эндогенной кольцевой РНК, полученной с использованием человеческих интронов, лишенных способности к автокаталитическому сплайсингу, но способных образовывать кольцевые РНК в клетке с участием сплайсосомы. Эндогенная кольцевая РНК не идентифицируется как чужеродная, так как ассоциирована со многими РНК-связывающимися белками [22]. Экзогенная кольцевая РНК из-за своей структуры способна активировать рецепторы врожденного иммунитета, что может способствовать более высокой реактогенности вакцин на основе кольцевых РНК по сравнению с линейной РНК-вакциной. Активация рецепторов врожденного иммунитета, таких как RIG-1 и MDA5, приводит к продукции IFN-I [23], что может вызывать активацию гуморальной ветки иммунитета, интенсивный В-клеточный ответ [24], а также приводить к подавлению Т-клеточного ответа [25].

Тем не менее, вакцина на основе кольцевой РНК, по всей вероятности, может быть эффективна против вирусных заболеваний, где более важно формирование именно выраженного гуморального иммунного ответа. Возможно, одним из перспективных направлений в дальнейшем будет комбинирование в одном препарате или в различных прайм-буст-стратегиях вакцин на основе линейной и кольцевой РНК, для того чтобы усилить как гуморальный, так и клеточный иммунный ответ и обеспечить более эффективный протективный иммунитет.

Занимаясь конструированием вакцин против *M. tuberculosis*, необходимо иметь в виду еще одну проблему: сложность этого микроорганизма. В связи с тем что *M. tuberculosis* содержит около 4000 генов [26], использование стратегий, применяемых для разработки

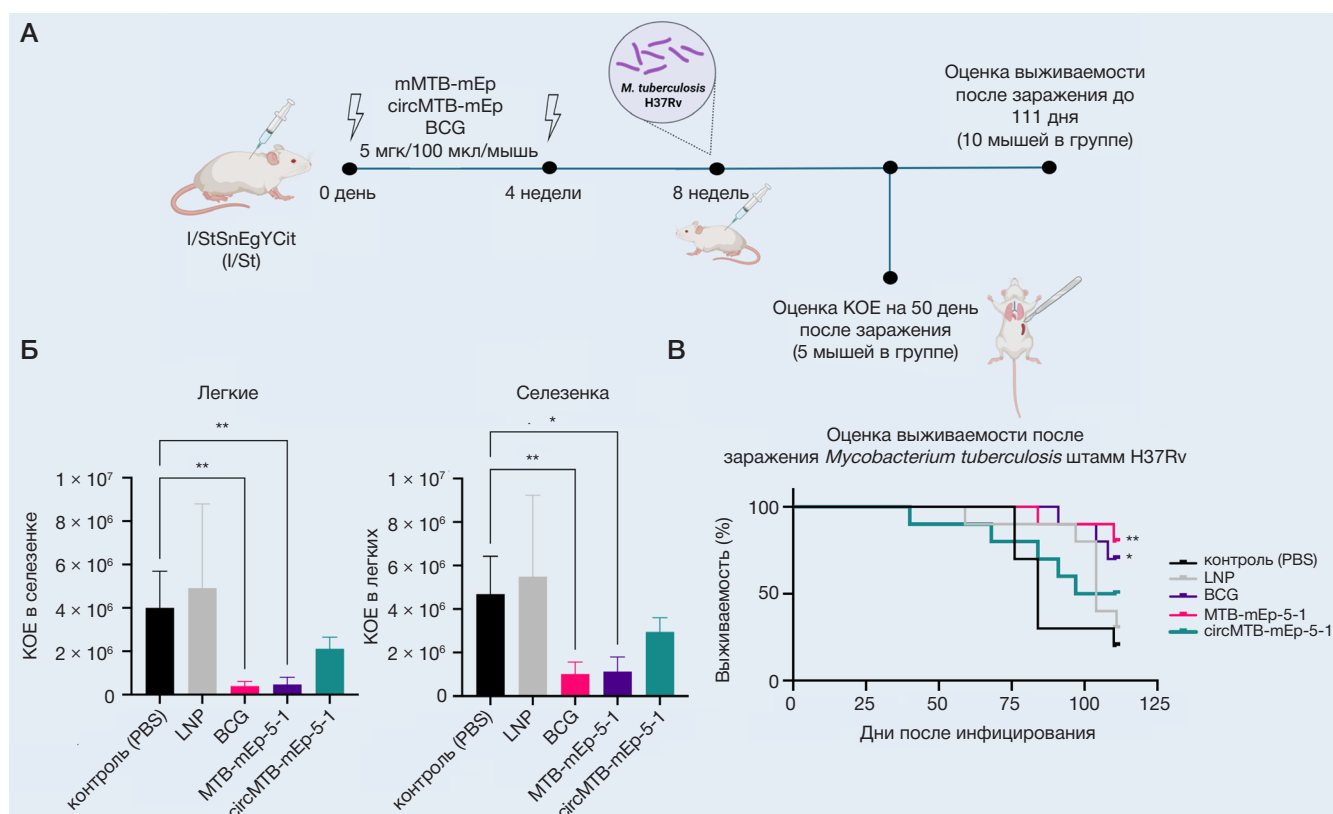


Рис. 2. Оценка протективного иммунного ответа после иммунизации мРНК-вакцинами. **А.** Схема постановки эксперимента. **Б.** Бактериальная нагрузка легочной ткани и селезенки иммунизированных мышей ($n = 5$) после инфицирования *M. tuberculosis* (штамм H37Rv). Данные представлены как среднее $\pm$ стандартное отклонение. **В.** Динамика выживаемости мышей ($n = 10$), иммунизированных противотуберкулезными вакцинами, после заражения *M. tuberculosis* (штамм H37Rv). * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$.

вакцин на основе вирусной мРНК, вряд ли будет напрямую применимо к вакцинам против туберкулеза на основе мРНК. Генетическая сложность *M. tuberculosis* контрастирует с относительно простой структурой вирусных геномов и еще больше усиливается из-за необычного генетического разнообразия, наблюдаемого среди различных штаммов микобактерий [27]. В настоящее время нет доказательств того, что один определенный антиген или ограниченное число антигенов играют решающую роль в обеспечении защиты.

В будущем, вероятно, применение гетерологичной буст-иммунизации для усиления эффекта вакцины BCG станет важным компонентом комплексных стратегий вакцинации против ТБ. Гетерологичную ревакцинацию

можно проводить в младенчестве или подростковом возрасте, когда эффект от BCG начинает ослабевать. Вакцины на основе мРНК находятся на переднем крае исследований, направленных на изучение возможности повышения уровня клеточного иммунитета против ТБ с помощью гетерологичной буст-иммунизации. Хотя ограничение инфекции для профилактики ТБ может быть реалистичным первым шагом, конечной целью должно стать использование схемы гетерологичного буста для создания либо «доконтактных» вакцин, предотвращающих развитие инфекции и заболевания, либо «постконтактных» вакцин, которые смогут остановить реактивацию заболевания у латентно инфицированных людей.

Таблица. Сводные данные по результатам исследований

Титр IgG (среднее $\pm$ стандартное отклонение, OD = A450)					
Разведение	BCG	MTB-mEp-5-1	circRNA-MTB-mEp	LNP	PBS
1 : 50	0,71 $\pm$ 0,08	0,50 $\pm$ 0,10	0,66 $\pm$ 0,11	0,39 $\pm$ 0,01	0,34 $\pm$ 0,05
1 : 100	0,58 $\pm$ 0,05	0,37 $\pm$ 0,11	0,56 $\pm$ 0,10	0,34 $\pm$ 0,02	0,30 $\pm$ 0,03
1 : 200	0,46 $\pm$ 0,05	0,30 $\pm$ 0,06	0,44 $\pm$ 0,08	0,28 $\pm$ 0,02	0,26 $\pm$ 0,03
1 : 400	0,39 $\pm$ 0,07	0,25 $\pm$ 0,03	0,42 $\pm$ 0,05	0,21 $\pm$ 0,02	0,20 $\pm$ 0,01
ИПК на лунку (среднее $\pm$ стандартное отклонение)					
	114,00 $\pm$ 38,99	27,60 $\pm$ 5,41	1,00 $\pm$ 1,00	1,00 $\pm$ 1,00	0,20 $\pm$ 0,45
КOE в легких (среднее $\pm$ стандартное отклонение)					
	4,00 $\times 10^5 \pm 2,13 \times 10^5$	4,72 $\times 10^5 \pm 3,44 \times 10^5$	2,12 $\times 10^6 \pm 5,30 \times 10^5$	4,91 $\times 10^6 \pm 3,89 \times 10^6$	4,01 $\times 10^6 \pm 1,69 \times 10^6$
КOE в селезенке (среднее $\pm$ стандартное отклонение)					
	1,01 $\times 10^6 \pm 5,52 \times 10^5$	1,13 $\times 10^6 \pm 6,78 \times 10^5$	2,95 $\times 10^6 \pm 6,47 \times 10^5$	5,49 $\times 10^6 \pm 3,75 \times 10^6$	4,69 $\times 10^6 \pm 1,74 \times 10^6$
Медиана выживаемости					
	—	—	94	104	84

ВЫВОДЫ

Полученные результаты по иммуногенности и протективной эффективности вакцин на основе линейной РНК подтверждают перспективность их использования в качестве вакцин

против *M. tuberculosis*. Вакцина на основе кольцевой РНК circMTB-mEP-5-1, несмотря на обеспечение значительного гуморального ответа, пока уступает в эффективности линейной, и требуется дальнейшая оптимизация для усиления клеточного и протективного иммунного ответа.

Литература

1. Global Tuberculosis Report 2024. Available from: <https://www.who.int/teams/global-programme-on-tuberculosis-and-lung-health/tb-reports/global-tuberculosis-report-2024> (дата обращения: 19.05.2025).
2. Kazakova A, Zhelnov P, Sidorov R, Rogova A, Vasileva O, Ivanov R, et al. DNA and RNA vaccines against tuberculosis: a scoping review of human and animal studies. *Frontiers in Immunology*. 2024; 15: 1457327.
3. Working Group for New TB Vaccines. Available from: <https://newtbvaccines.org/> (дата обращения: 12.07.2025).
4. Baden LR, El Sahly H.M, Essink B, Kotloff K, Frey S, Novak R, et al. Efficacy and Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine. *New England Journal of Medicine*. 2021; 384 (5): 403–16.
5. Khlebnikova A, Kirshina A, Zakharova N, Ivanov R, Reshetnikov V. Current Progress in the Development of mRNA Vaccines Against Bacterial Infections. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024; 25 (23): 13139.
6. Weng Y, Li C, Yang T, Hu B, Zhang M, Guo S, et al. The challenge and prospect of mRNA therapeutics landscape. *Biotechnology Advances*. 2020; 40: 107534.
7. Liu X, Zhang Y, Zhou S, Dain L, Mei L, Zhu G. Circular RNA: An emerging frontier in RNA therapeutic targets, RNA therapeutics, and mRNA vaccines. *Journal of Controlled Release*. 2022; 348: 84–94.
8. Hwang HJ, Kim YK. Molecular mechanisms of circular RNA translation. *Experimental & molecular medicine*. 2024; 56 (6): 1272–80.
9. Margvelani G, Maquera KAA, Welden JR, Rodgers DW, Stamm S. Translation of circular RNAs. *Nucleic acids research*. 2025; 53 (1): gkae1167.
10. Zhou J, Ye T, Yang Y, Li E, Zhang K, Wang Y, et al. Circular RNA vaccines against monkeypox virus provide potent protection against vaccinia virus infection in mice. *Molecular Therapy*. 2024; 32 (6): 1779–89.
11. Qu L, Yi Z, Shen Y, Lin L, Chen F, Xu Y, et al. Circular RNA vaccines against SARS-CoV-2 and emerging variants. *Cell*. 2022; 185 (10): 1728–44.
12. Radaeva TV, Nikonenko BV, Mischenko VV, Averbakh MM, Apt AS. Direct comparison of low-dose and Cornell-like models of chronic and reactivation tuberculosis in genetically susceptible I/St and resistant B6 mice. *Tuberculosis*. 2005; 85 (1–2): 65–72.
13. Reshetnikov V, et al. The Candidate Anti-Tuberculosis MRNA Vaccine Immunogenicity and Reactogenicity Dependency on the Animal's Sex and the Vaccine Dose. *Bull Russ State Med Univ*. 2024; 5: 25–31.
14. Kozlova A, Pateev I, Shepelkova G, Vasileva O, Zakharova N, Yermeev V, et al. A Cap-Optimized MRNA Encoding Multiepitope Antigen ESAT6 Induces Robust Cellular and Humoral Immune Responses Against Mycobacterium tuberculosis. *Vaccines*. 2024; 12 (11): 1267.
15. Reshetnikov V, Terenin I, Shepelkova G, Yermeev V, Kolmykov S, Nagornyykh M, et al. Untranslated region sequences and the efficacy of mRNA vaccines against tuberculosis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024; 25 (2): 888.
16. Avdienko VG, Babayan SS, Bocharova IV. Characteristics and application of monoclonal antibodies to Mycobacterium kansasii. *CTRI Bulletin*. 2024; 8 (4): 51–60.
17. Nikonenko BV, Apt AS, Mezhlumova MB, Avdienko VG, Yermeev VV, Moroz AM. Influence of the mouse Bcg Tbc-1 and xid genes on resistance and immune responses to tuberculosis infection and efficacy of bacille Calmette–Guérin (BCG) vaccination. *Clinical and Experimental Immunology*. 2003; 104 (1) 37–43.
18. Yang Y, Wang Z. IRES-mediated cap-independent translation, a path leading to hidden proteome. *Journal of molecular cell biology*. 2019; 11 (10): 911–9.
19. Lai R, Ogunola AF, Rakib T, Behar SM. Key advances in vaccine development for tuberculosis—success and challenges. *NPJ vaccines*. 2023; 8 (1): 158.
20. Rijink WF, Ottenhoff TH, Joosten SA. B-cells and antibodies as contributors to effector immune responses in tuberculosis. *Frontiers in immunology*. 2021; 12: 640168.
21. Obi P, Chen YG. The design and synthesis of circular RNAs. *Methods*. 2021; 196: 85–103.
22. Chen YG, Kim MV, Chen X, Batista PJ, Aoyama S, Wilusz JE. Sensing self and foreign circular RNAs by intron identity. *Molecular cell*. 2017; 67 (2): 228–38.
23. Rehwinkel J, Gack MU. RIG-I-like receptors: their regulation and roles in RNA sensing. *Nature Reviews Immunology*. 2020; 20 (9): 537–51.
24. Le Bon A, Schiavoni G, D'Agostino G, Gresser I, Belardelli F, Tough DF. Type I interferons potentially enhance humoral immunity and can promote isotype switching by stimulating dendritic cells in vivo. *Immunity*. 2001; 14 (4): 461–70.
25. Crouse J, Kalinke U, Oxenius A. Regulation of antiviral T cell responses by type I interferons. *Nature Reviews Immunology*. 2015; 15 (4): 231–42.
26. Cole St, Brosch R, Parkhill J, Garnier T, Churcher C, Harris D, et al. Deciphering the biology of Mycobacterium tuberculosis from the complete genome sequence. *Nature*. 1998; 396 (6707): 190.
27. Gagneux S, Small PM. Global phylogeography of Mycobacterium tuberculosis and implications for tuberculosis product development. *The Lancet infectious diseases*. 2007; 7 (5): 328–37.

References

1. Global Tuberculosis Report 2024. Available from: <https://www.who.int/teams/global-programme-on-tuberculosis-and-lung-health/tb-reports/global-tuberculosis-report-2024> (access date: 19.05.2025).
2. Kazakova A, Zhelnov P, Sidorov R, Rogova A, Vasileva O, Ivanov R, et al. DNA and RNA vaccines against tuberculosis: a scoping review of human and animal studies. *Frontiers in Immunology*. 2024; 15: 1457327.
3. Working Group for New TB Vaccines. Available from: <https://newtbvaccines.org/> (access date: 12.07.2025).
4. Baden LR, El Sahly H.M, Essink B, Kotloff K, Frey S, Novak R, et al. Efficacy and Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine. *New England Journal of Medicine*. 2021; 384 (5): 403–16.
5. Khlebnikova A, Kirshina A, Zakharova N, Ivanov R, Reshetnikov V. Current Progress in the Development of mRNA Vaccines Against Bacterial Infections. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024; 25 (23): 13139.
6. Weng Y, Li C, Yang T, Hu B, Zhang M, Guo S, et al. The challenge and prospect of mRNA therapeutics landscape. *Biotechnology Advances*. 2020; 40: 107534.

7. Liu X, Zhang Y, Zhou S, Dain L, Mei L, Zhu G. Circular RNA: An emerging frontier in RNA therapeutic targets, RNA therapeutics, and mRNA vaccines. *Journal of Controlled Release*. 2022; 348: 84–94.
8. Hwang HJ, Kim YK. Molecular mechanisms of circular RNA translation. *Experimental & molecular medicine*. 2024; 56 (6): 1272–80.
9. Margvelani G, Maquera KAA, Welden JR, Rodgers DW, Stamm S. Translation of circular RNAs. *Nucleic acids research*. 2025; 53 (1): gkae1167.
10. Zhou J, Ye T, Yang Y, Li E, Zhang K, Wang Y, et al. Circular RNA vaccines against monkeypox virus provide potent protection against vaccinia virus infection in mice. *Molecular Therapy*. 2024; 32 (6): 1779–89.
11. Qu L, Yi Z, Shen Y, Lin L, Chen F, Xu Y, et al. Circular RNA vaccines against SARS-CoV-2 and emerging variants. *Cell*. 2022; 185 (10): 1728–44.
12. Radaeva TV, Nikonenko BV, Mischenko VV, Averbakh MM, Apt AS. Direct comparison of low-dose and Cornell-like models of chronic and reactivation tuberculosis in genetically susceptible I/St and resistant B6 mice. *Tuberculosis*. 2005; 85 (1–2): 65–72.
13. Reshetnikov V, et al. The Candidate Anti-Tuberculosis MRNA Vaccine Immunogenicity and Reactogenicity Dependency on the Animal's Sex and the Vaccine Dose. *Bull. Russ. State Med. Univ*. 2024; 5: 25–31.
14. Kozlova A, Pateev I, Shepelkova G, Vasileva O, Zakharova N, Yermeev V, et al. A Cap-Optimized MRNA Encoding Multiepitope Antigen ESAT6 Induces Robust Cellular and Humoral Immune Responses Against *Mycobacterium tuberculosis*. *Vaccines*. 2024; 12 (11): 1267.
15. Reshetnikov V, Terenin I, Shepelkova G, Yermeev V, Kolmykov S, Nagornyykh M, et al. Untranslated region sequences and the efficacy of mRNA vaccines against tuberculosis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024; 25 (2): 888.
16. Avdienko VG, Babayan SS, Bocharova IV. Characteristics and application of monoclonal antibodies to *Mycobacterium kansasii*. *CTRI Bulletin*. 2024; 8 (4): 51–60.
17. Nikonenko BV, Apt AS, Mezhlumova MB, Avdienko VG, Yermeev VV, Moroz AM. Influence of the mouse Bcg Tbc-1 and xid genes on resistance and immune responses to tuberculosis infection and efficacy of bacille Calmette–Guérin (BCG) vaccination. *Clinical and Experimental Immunology*. 2003; 104 (1) 37–43.
18. Yang Y, Wang Z. IRES-mediated cap-independent translation, a path leading to hidden proteome. *Journal of molecular cell biology*. 2019; 11 (10): 911–9.
19. Lai R, Ogunsola AF, Rakib T, Behar SM. Key advances in vaccine development for tuberculosis—success and challenges. *NPJ vaccines*. 2023; 8 (1): 158.
20. Rijnink WF, Ottenhoff TH, Joosten SA. B-cells and antibodies as contributors to effector immune responses in tuberculosis. *Frontiers in immunology*. 2021; 12: 640168.
21. Obi P, Chen YG. The design and synthesis of circular RNAs. *Methods*. 2021; 196: 85–103.
22. Chen YG, Kim MV, Chen X, Batista PJ, Aoyama S, Wilusz JE. Sensing self and foreign circular RNAs by intron identity. *Molecular cell*. 2017; 67 (2): 228–38.
23. Rehwinkel J, Gack MU. RIG-I-like receptors: their regulation and roles in RNA sensing. *Nature Reviews Immunology*. 2020; 20 (9): 537–51.
24. Le Bon A, Schiavoni G, D'Agostino G, Gresser I, Belardelli F, Tough DF. Type I interferons potently enhance humoral immunity and can promote isotype switching by stimulating dendritic cells in vivo. *Immunity*. 2001; 14 (4): 461–70.
25. Crouse J, Kalinke U, Oxenius A. Regulation of antiviral T cell responses by type I interferons. *Nature Reviews Immunology*. 2015; 15 (4): 231–42.
26. Cole St, Brosch R, Parkhill J, Garnier T, Churcher C, Harris D. Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature*. 1998; 396 (6707): 190–190.
27. Gagneux S, Small PM. Global phylogeography of *Mycobacterium tuberculosis* and implications for tuberculosis product development. *The Lancet infectious diseases*. 2007; 7 (5): 328–37.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПАТОГЕНОВ ВО ВРЕМЯ ОРТОПЕДИЧЕСКИХ ОПЕРАЦИЙ: ИССЛЕДОВАНИЕ В Г. ЭН-НАСИРИЯ

Карим Аль-Зиркан ✉

Медицинский колледж, Иракский университет Аль-Айан (AUIQ), Эн-Насирия, Ирак

Бактерии, встречающиеся в операционных, могут приводить к хирургическим и внутрибольничным инфекциям. Целью работы было идентифицировать бактерии, ответственные за обсеменение, определить факторы, способствующие обсеменению, а также картировать распределение этих микроорганизмов по различным зонам операционного блока и определить характер их устойчивости к противомикробным средствам с использованием микробиологических стандартов. Было отобрано 1358 образцов с поверхностей и предметов в операционной. В 3,1% случаев результаты анализа на наличие бактерий были положительными, а в 96,9% случаев имело место отсутствие роста бактерий. Идентифицированы патогенные бактерии шести типов: коагулазонегативные стафилококки (14,3%), *Staphylococcus aureus* (11,9%), *Pseudomonas aeruginosa* (19,1%), *E. coli* (21,4%), *Bacillus spp.* (11,9%) и *Enterobacter spp.* (21,4%). Выявлена умеренная и сильная устойчивость к амоксициллину и ампициллину, цефаклору, цефуроксиму, цефадроксилу, эритромицину. Самая высокая устойчивость выявлена у изолятов *P. aeruginosa*. На втором месте — *E. coli*, продемонстрировавшая разную устойчивость к 14 противомикробным средствам и чувствительность только к амикацину. Таким образом, исследование, проведенное в Больнице Имама Хусейна, выявило в целом низкий, но заметный уровень обсеменения ортопедических операционных опасными для пациентов специфическими патогенами. Полученные результаты согласуются с глобальными данными, что говорит об универсальности проблемы обеспечения стерильности операционных. Постепенное выявление очагов и закономерностей обсеменения подчеркивает необходимость применения целенаправленных мер и постоянного наблюдения.

Ключевые слова: *Pseudomonas aeruginosa*, зоны операционного блока, устойчивость к противомикробным средствам

Соблюдение этических стандартов: исследование проведено в соответствии со стандартами добросовестной клинической практики и доказательной медицины.

✉ Для корреспонденции: Kareem Al-Zirkan

Al-Zirkan KD, lecturer College of Medicine Al-Ayen Iraqi University, An Nasiriyah, Iraq; kareem.kafy@alayen.edu.iq

Статья получена: 01.06.2025 **Статья принята к печати:** 06.07.2025 **Опубликована онлайн:** 15.07.2025

DOI: 10.24075/vrgmu.2025.034

Авторские права: © 2025 принадлежат авторам. **Лицензиат:** РНИМУ им. Н. И. Пирогова. Статья размещена в открытом доступе и распространяется на условиях лицензии Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

MICROBIOLOGICAL ANALYSIS AND IDENTIFICATION OF PATHOGENS IN ORTHOPEDIC THEATRES: AL-NASSIRIYAH CITY'S STUDY

Kareem Al-Zirkan ✉

College of Medicine, Al-Ayen Iraqi University, AUIQ, An Nasiriyah, Iraq

Bacteria found in the operating room can lead to surgical site and hospital-acquired infections. This study was conducted in Imam Hussein Hospital in Nasiriyah to investigate the contamination levels in the operating rooms. The main goal of the research was to identify the bacteria responsible for contamination and the factors contributing to it. The study also aimed to map these microorganisms' distribution across different operating room areas and their antibiotic resistance pattern using microbiological standards. We gathered 1358 samples for analysis from surfaces and objects in the operating room. The results showed that 3.1% tested positive for bacteria, and 96.9% were negative cultures. Six types of pathogenic bacteria have been identified; Coagulase-negative staphylococci 14.3%, *Staphylococcus aureus* 11.9%, *Pseudomonas aeruginosa* 19.1%, *E. coli* 21.4%, *Bacillus spp.* 11.9%, and *Enterobacter spp.* 21.4%. We observed moderate to high resistance pattern to amoxicillin and ampicillin, Cefaclor, Cefuroxime, Cefadroxil, Erythromycin. The highest resistance pattern was detected in *P. aeruginosa* isolates followed by *E. coli*, it showed different resistance patterns to 14 antibiotics showing susceptibility to Amikacin only. Conclusion: the study at Imam Hussein Hospital found a generally low but notable level of bacterial contamination in orthopedic operating theaters, with specific pathogens posing risks to patients. These findings align with global data, underscoring common challenges in maintaining sterile surgical environments. Identifying contamination hotspots and patterns over time highlights the need for targeted interventions and continuous monitoring.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, operating room areas, antibiotic resistance

Compliance with ethical standards: the study was conducted in accordance with the standards of good clinical practice and evidence-based medicine.

✉ Correspondence should be addressed: Kareem Al-Zirkan

Al-Zirkan KD, lecturer College of Medicine Al-Ayen Iraqi University, An Nasiriyah, Iraq; kareem.kafy@alayen.edu.iq

Received: 01.06.2025 **Accepted:** 06.07.2025 **Published online:** 15.07.2025

DOI: 10.24075/brsmu.2025.034

Copyright: © 2025 by the authors. **Licensee:** Pirogov University. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Важнейшим фактором развития внутрибольничных инфекций (ВБИ) является присутствие патогенных микроорганизмов в помещении. Клинические последствия этого открытия имеют важное значение не только для пациента, но и для хирургической бригады, которая оказывает помощь [1, 2]. Согласно статистическим данным Центров профилактики и контроля заболеваемости (CDC), нозокомиальные инфекции (НИ) ежегодно развиваются у 1,7 млн человек.

Они вызывают до 99 000 летальных исходов [3]. Ортопедические хирургические вмешательства, особенно такие плановые операции, как артропластика и операции на кисти, снижают риск развития послеоперационной инфекции [4]. В ортопедической хирургии применяют более строгие протоколы стерилизации, чем при проведении иных хирургических операций. Хотя методики измерения, используемые для оценки индекса риска НИ,

могут различаться, возможны значительные колебания их частоты [5].

В то же время НИ продолжают оставаться источником беспокойства из-за связанных с ними значительных показателей заболеваемости и длительного пребывания в стационаре, повторных госпитализаций и ревизионных операций, приводящих к росту затрат на лечение [6, 7]. Согласно имеющимся данным, из-за бактериальных НИ в Насирии за последние два года (2021–2023) было проведено около 1718 операций на бедре, колене, операций внутренней фиксации, операций на тазобедренном суставе и кисти. Неудивительно, что эти тревожные цифры побудили медицинских специалистов предпринять ряд попыток определить и свести к минимуму причины возникновения НИ и связанные с ними риски. В исследованиях выявлено множество источников, связанных с распространением патогенных микроорганизмов, например воздух, больничные помещения, морозильные камеры с жидким азотом, одежда персонала и даже длительное хранение стерильной металлической посуды в открытом виде [8, 9].

Установлен ряд различных источников загрязнения операционной: необработанный воздух, вентилируемые помещения и антисептические жидкости; раневой дренаж; пациент и сумка с вещами; хирургическая бригада; число внутренних перемещений; хирургическая одежда; обувь; перчатки и руки; использование недостаточно стерильных материалов; загрязненная среда и сильно загрязненные поверхности [10, 11]. Благодаря внедрению подходящих мер инфекционного контроля можно избежать микробного обсеменения операционной. Например, уменьшение примерно в 13 раз содержания бактерий в воздухе приведет к 50%-му снижению показателя инфицирования ран. В основном оно обусловлено частой фумигацией операционных и совершенствованием процедур уборки и дезинфекции [12, 13].

Кроме того, исследования показали, что мобильные устройства, которые медицинские работники используют во всей больнице, представляют собой один из основных источников загрязнения операционной. Ряд исследований показал, что болезнетворные микроорганизмы, такие как коагулазонегативные стафилококки (CoNS), *S. aureus* и *Acetibacter*, перемещаются на мобильных телефонах [14, 15].

Выявлено несколько предотвратимых причин НИ. Применение правильной обработки позволяет уменьшить распространность НИ. Проблемы могут быть связаны с пациентами, хирургами, медицинскими сестрами, воздухом операционной и оборудованием. Несмотря на то что было разработано несколько методов для снижения риска инфекции после имплантации, инфицирование все еще возможно. Чтобы сократить количество инфекций, возникающих в операционной, важно практиковать такие меры, как соблюдение гигиены рук, профилактическое применение противомикробных средств в приемлемых формах и правильной дозировке, ношение хирургической одежды и ограничение мобильности персонала. Хирургические инфекции занимают третье место среди наиболее распространенных нозокомиальных инфекций (около 14–16%). Устойчивость к противомикробным средствам стала общемировой проблемой с соответствующими последствиями и операционные одновременно служат рассадником и центром, из которого мультирезистентные (MP) микроорганизмы распространяются по больнице. В развитых и развивающихся странах рост частоты нозокомиальных инфекций прямо или косвенно связан с показателями бактериального обсеменения, несмотря

на относительно высокий уровень гигиены и чистоты, а также базовое понимание мер по контролю инфекций с применением профилактических методов [16, 17].

Необходимо осуществлять надзор внутри подразделения для получения крайне необходимых эпидемиологических данных, которые послужат моделью для разработки политики контроля и профилактики инфекций. Инфекции, поражающие кости и суставы, считают основной причиной заболеваемости, эмоционального стресса и повышенной смертности, а также значительных экономических потерь, поэтому можно представить себе масштаб проблемы. Целью настоящего исследования было оценить уровень обсеменения операционных в Больнице Имама Хусейна в Насирии. Основной целью было выявить ответственные за обсеменение бактерии и связанные с этим факторы. В ходе исследования мы также попытались составить карту распространения этих микроорганизмов в нескольких зонах операционной и характер их устойчивости к противомикробным средствам, используя микробиологические критерии. В связи с этим мы приняли решение оценить уровень бактериального обсеменения в ортопедических операционных больницы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В Больнице Имама Хусейна, расположенной в г. Насирия, где проводили исследование, есть три разные операционные. С февраля 2022 г. по май 2024 г. три операционные были предназначены для общей хирургии, две для урологических операций и три — для ортопедических. Мы оценивали бактериальное обсеменение ортопедических операционных больницы примерно 4–5 раз в месяц. Чтобы взять мазки, стерильные тампоны смачивали стерильным физиологическим раствором, сразу после этого ими несколько раз протирали поверхности пола, дверей, телефонных трубок, стен, раковин и медицинских инструментов в операционной и отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) до и после операции. Затем образцы надлежащим образом подписывали для транспортировки в лабораторию и дальнейшей обработки. Непосредственно после отбора проб все мазки использовали для культивирования методом выделения на обогащенном кровяном агаре и агаре CLED [18] (рис. 1).

В соответствии с рекомендациями CSLI, исследование чувствительности к противомикробным средствам проводили диск-диффузионным методом на среде Мюллера–Хинтона (рис. 2). На 15 дисков нанесли следующие противомикробные средства: ампициллин (AM), амоксициллин (AMX), амоксициллин/клавулановую кислоту (AMC), цефаклор (CEC), цефадроксил (CFR), цефуроксим (CXM), цефтриаксон (CRO), цефтазидим (CAZ), цефотаксим (CTX), цефиксим (CFM), эритромицин (ERY), ципрофлоксацин (CIP), левофлоксацин (LE), гентамицин (GM), амикацин (AK) (рис. 3). Следуя рекомендациям, измеряли и интерпретировали диаметр зоны ингибирования роста бактериальных изолятов [19].

Статистический анализ

Показатели, которые представляли частоты и процентные доли, анализировали с использованием статистического программного обеспечения SPSS, версия 17.0. Статистический анализ данных был выполнен с учетом того, что ошибка первого рода составляла 0,05 с 95%-м доверительным интервалом. Данные представляли в

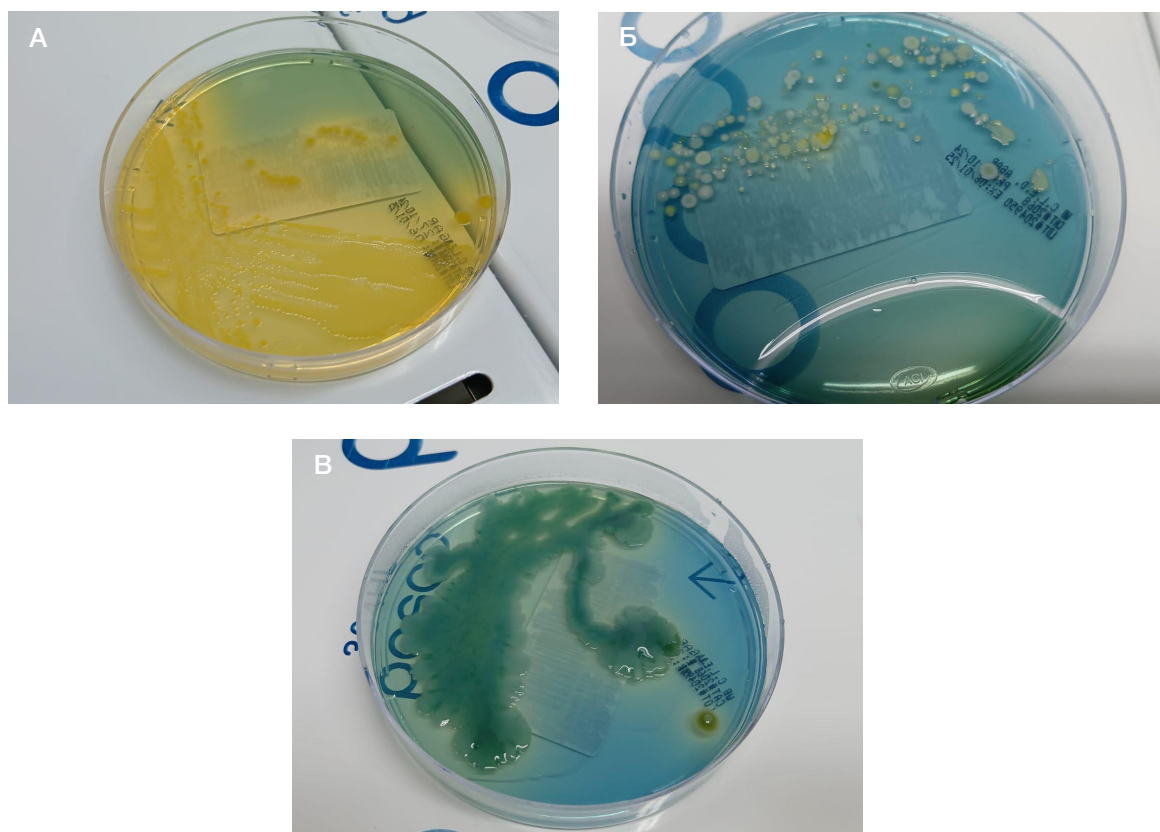


Рис. 1. А. Грамотрицательные бактерии на среде CLED. Б. Грамположительные бактерии на среде CLED. В. Характерный вид изолятов *P. aeruginosa*

виде среднего и стандартного отклонения ($\text{mean} \pm \text{SD}$). Частоты и процентные доли использовали для описания демографических факторов и исходных условий. Для указанных выше сравнений использовали критерий хи-квадрат, если выполнялись условия теста, в противном случае использовали t -критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для микробиологического анализа в ортопедических операционных с февраля 2022 г. по май 2024 г. были отобраны 1358 мазков. После посева и культивирования мазков в аэробных и анаэробных условиях было установлено, что 42 мазка (3,09%) продемонстрировали наличие роста, в то время как отсутствие роста бактерий было зафиксировано в 1316 случаях (96,90%).

Временное распределение культур с наличием роста продемонстрировало высокие показатели в феврале, марте, апреле, в то время как в мае был зафиксирован общий спад.

Высокая частота культур с наличием роста показана для мазков, взятых с кушетки операционной, — 12 (28,57%), пола — 11 (26,19%) и стены — 9 (21,43%). Низкая частота культур с наличием роста зафиксирована для мазков, взятых с органических операционных отходов, — 5 (11,91%), антисептических растворов — 3 (7,14%) и тележек для анестезии — 2 (4,76%); мазки, взятые с марли (0%) и хирургических инструментов (0%), продемонстрировали отсутствие роста бактерий (рис. 3). Высокая значимость различий ($P\text{-value} < 0,001$) установлена для показателей бактериального обсеменения различных источников, откуда были взяты мазки. При этом показатели обсеменения кушетки, пола и стены были значимо выше показателей обсеменения других зон.

В ортопедических операционных были выявлены патогенные бактерии следующих шести типов: CoNS — 6 (14,29%), *S. aureus* — 5 (11,90%), *P. aeruginosa* — 8 (19,05%), *E. coli* — 9 (21,43%), *Bacillus spp.* — 5 (11,90%) и *Enterobacter spp.* 9 (21,43%). Значимые различия частотного распределения видов бактерий выявлены не были (табл. 1).

Мы наблюдали умеренную и высокую устойчивость (табл. 2) к амоксициллину и ампициллину, цефаклору, цефуроксиму, цефадроксилу, эритромицину. Все выявленные организмы продемонстрировали самую высокую устойчивость к амоксициллину и ампициллину. Устойчивость снижалась при добавлении к амоксициллину клавулановой кислоты.

S. aureus показал самую высокую устойчивость к ампициллину и амоксициллину ($n = 5$), за ними следовали амоксициллин/клавулановая кислота и эритромицин ($n = 3$),

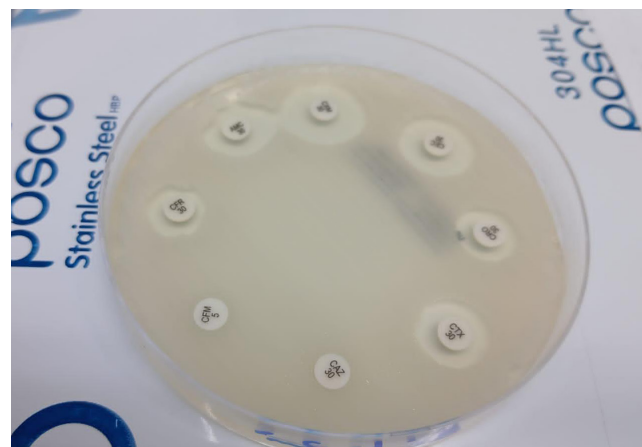


Рис. 2. Бактериальная культура, демонстрирующая устойчивость к цефазидиму (CAZ) и цефиксиму (CFM)

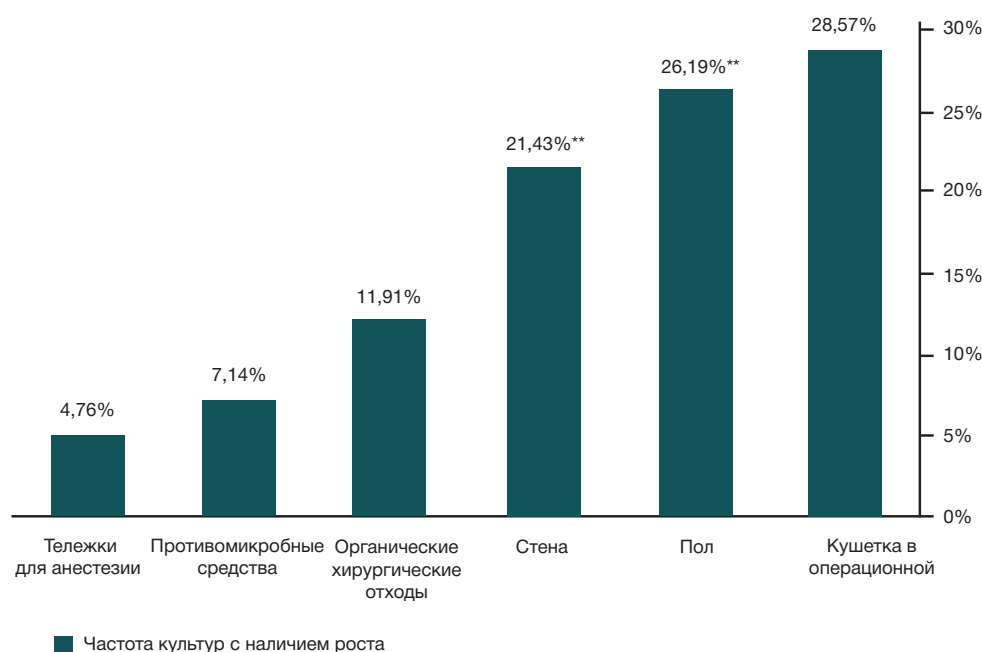


Рис. 3. Визуализация частоты культур с наличием роста бактерий в операционных с разбивкой по источникам получения образцов. ** — значимое различие: P -value < 0,001.

цефаклор ($n = 2$); только один изолят был устойчив к цефадроксилу, цефтазидиму, цефотаксиму, цефиксиму и гентамицину, при этом все изоляты были чувствительны к остальным исследуемым противомикробным средствам. Самая высокая устойчивость выявлена у изолятов *P. aeruginosa*. За ними следует *E. coli*, показавшая разную устойчивость к 14 антибиотикам и чувствительность только к амикацину. Самая низкая устойчивость выявлена у CoNS, *Enterobacter spp.* и *Bacillus spp.*, продемонстрировавших устойчивость к четырем, пяти, четырем противомикробным средствам соответственно. Показатели устойчивости к разным противомикробным средствам значимо различались (P -value < 0,05), при этом была выявлена наибольшая устойчивость к AM, AMX, ERY и наименьшая устойчивость к LE, AK, CFM. Помимо того, результаты показали, что *E. coli* и *P. aeruginosa* были значимо более устойчивыми к противомикробным средствам, чем другие бактерии (P -value < 0,05).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Пациенты и их семьи могут столкнуться с тяжелыми последствиями послеоперационных инфекций, возникающих в результате бактериального обсеменения операционных. Для исследования каждого случая подозрения на внутрибольничную инфекцию (ВБИ) необходимо получение коллекции культур с разных участков тела пациента, а

также с других пациентов, персонала и окружающей обстановки [20]. При сборе требуемых данных крайне важно тщательно отбирать образцы для культивирования. Инфекции приводят к увеличению продолжительности госпитализации, вызывают долгосрочные нарушения, повышают устойчивость к противомикробным средствам, приводят к летальным исходам и создают значительное дополнительное финансовое бремя для системы здравоохранения. Таким образом, решением может стать правильно реализованная программа контроля инфекций, которая повысит уровень образования и ответственности персонала.

Кроме того, необходимо провести исследования, чтобы адаптировать и валидировать контрольные (надзорные) процедуры к реалиям развивающейся страны для достижения приемлемой эффективности. Это может способствовать уменьшению частоты ВБИ примерно на треть [21]. Из всех процедур и положений, процедуры дезинфекции окружающей среды и стерилизации инструментов, несомненно, требуют самого строгого контроля.

В ходе исследования в мазках, продемонстрировавших рост бактерий, выявлены патогенные бактерии шести типов: CoNS (14,29%), *S. aureus* (11,90%), *P. aeruginosa* (19,05%), *E. coli* (21,43%), *Bacillus spp.* (11,90%) и *Enterobacter spp.* (21,43%). Эти патогены являются общеизвестными возбудителями внутрибольничных инфекций, и их

Таблица 1. Распределение бактериальных изолятов внутри операционных

Выделенные виды	Число изолятов	n (%)
CoNS	6	—14,29%
<i>S. aureus</i>	5	—11,90%
<i>P. aeruginosa</i>	8	—19,05%
<i>E. coli</i>	9	—21,43%
<i>Bacillus spp.</i>	5	—11,90%
<i>Enterobacter spp.</i>	9	—21,43%
Всего	42	100%
P -value		0,766

Таблица 2. Характер устойчивости к противомикробным средствам выявленных бактериальных изолятов

<i>Enterobacter spp.</i>	<i>Bacillus spp.</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	CoNS	Противомикробное средство
4	3	5	8	5	4	AM
2	2	6	8	5	3	AMX
1	0	3	6	3	0	AMC
0	1	5	6	2	0	CEC
0	0	6	7	1	0	CFR
0	1	4	7	0	1	CXM
0	0	1	3	0	0	CRO
0	0	1	2	1	0	CAZ
0	0	1	3	1	0	CTX
0	0	0	1	1	0	CFM
1	1	3	6	3	2	ERY
0	0	1	2	0	0	CIP
0	0	0	1	0	0	LE
0	0	2	2	1	0	GM
0	0	1	0	0	0	AK

Примечание: AM — ампициллин, AMX — амоксициллин, AMC — амоксициллин/клавулановая кислота, CEC — цефаклор, CFR — цефадроксил, CXM — цефуроксим, CRO — цефтриаксон, CAZ — цефтазидим, CTX — цефотаксим, CFM — цефиксим, ERY — эритромицин, CIP — ципрофлоксацин, LE — левофлоксацин, GM — гентамицин, AK — амикацин.

присутствие в операционных вызывает беспокойство. *S. aureus* печально известен из-за роли, которую он играет в развитии послеоперационных раневых инфекций. Его может быть сложно лечить из-за устойчивости ко многим противомикробным препаратам. Относительно частая встречаемость *E. coli* и *Enterobacter spp.*, составивших 21,43% всех выявленных патогенов, подчеркивает возможность заражения от таких источников, как хирургические инструменты или руки медицинских работников, что акцентирует внимание на потребности в строгих протоколах стерилизации.

Распределение культур с наличием роста в пределах ортопедических операционных демонстрирует тревожную картину: наиболее высокие показатели обсеменения получены для кушетки (28,57%), пола (26,19%) и стен (21,43%). Это позволяет предположить, что данные поверхности, с которыми часто соприкасаются пациенты, персонал и оборудование, представляют собой важнейшие источники заражения. Присутствие патогенов на кушетке, на которой пациент лежит во время хирургической операции, представляет собой непосредственную угрозу безопасности пациента, поскольку может стать причиной хирургических инфекций. Значительное обсеменение пола и стен также подчеркивает необходимость строгих протоколов уборки и регулярной дезинфекции всех поверхностей внутри операционной. Низкую частоту культур с наличием роста, напротив, продемонстрировали органические хирургические отходы (11,91%), антисептические растворы (7,14%) и тележки для анестезии (4,76%). В то же время отсутствие роста бактерий показано для марли и хирургических инструментов. Отсутствие обсеменения хирургических инструментов и марли — положительный результат, который подтверждает, что протоколы стерилизации этих критически важных предметов эффективно предотвращают трансмиссию патогенов. Это соответствует лучшим практикам инфекционного контроля, в которых приоритет отдается стерильности инструментов, используемых при проведении инвазивных операций. Показано, что в операционных присутствуют бактерии *S. aureus* [22], которые также были обнаружены в ходе настоящего исследования, и частота их встречаемости

в хирургических отделениях составляет около 15% — это немного выше 10,34%, выявленных в Эн-Насирии.

Наблюдаемые различия можно объяснить тем, что в больницах разных регионов применяют разные санитарные меры и меры инфекционного контроля.

Соответствующее исследование обсеменения при проведении «чистых» ортопедических операций выявило коагулазонегативные стафилококки и *Enterobacter spp.* как типы бактерий [23]. Эти результаты согласуются с результатами нашего исследования, акцентирующими внимание на распространенности коагулазонегативных стафилококков и видов рода *Enterobacter*. Исследование подчеркнуло роль систем вентиляции с ламинарными потоками в предупреждении обсеменения и влияния бактерий, продемонстрировав улучшение условий в операционных в Эн-Насирии.

Escherichia coli и *P. aeruginosa* вызывают обеспокоенность по поводу стерильности среды во время проведения операций. *P. aeruginosa*, известная своей устойчивостью и связью с внутрибольничными инфекциями, обнаружена в 17,24% образцов. Это резко отличается от данных исследования, продемонстрировавшего распространенность *Pseudomonas* в хирургических отделениях [24], и подчеркивает заметный рост их численности.

Можно предположить, что используемые в Эн-Насирии методы инфекционного контроля могут быть неэффективными. Аналогичным образом, *Escherichia coli* была обнаружена в 24,14% образцов, что представляет собой намного более высокий показатель по сравнению с исследованием, в ходе которого *E. coli* была обнаружена более чем в 10% образцов [25]. Такие различия подчеркивают необходимость применения санитарно-гигиенических мер и стерилизации для предупреждения обсеменения. Влияние таких загрязнителей на пациентов невозможно переоценить. Послеоперационные инфекции могут приводить к послеоперационным осложнениям, обуславливающим более длительное пребывание в стационаре, увеличение числа хирургических вмешательств и рост медицинских расходов. Так, при оценивании последствий хирургических инфекций было установлено, что время пребывания инфицированных пациентов в стационаре удвоилось,

а показатель повторных госпитализаций увеличился в пять раз [26]. У ортопедических пациентов имеет место риск возникновения поверхностных и глубоких инфекций, вызванных бактериями, выявленными в ходе исследования в Эн-Насирии, что может значительно затруднить их выздоровление и ухудшить общий исход.

При сравнении с результатами других исследований стало очевидно, что показатели обсеменения и выявленные типы патогенов согласуются с показателями, полученными в ходе аналогичных исследований ортопедических и прочих хирургических отделений. Так, в специализированной больнице наиболее часто встречающимися загрязнителями операционных были *S. aureus* и *P. aeruginosa* с показателями обсеменения в диапазоне 2–5% [27], аналогичными показателем обсеменения 3,09%, полученному в ходе настоящего исследования.

В другом исследовании, проведенном в больнице в Нигерии, *Escherichia coli* и *Enterobacter spp.* были одними из самых часто выделяемых в операционных бактерий [28], что подтверждает результаты настоящего исследования. Сравнение позволяет предположить, что типы бактерий, выявленные в ортопедических операционных больницы Имама Хусейна, характерны для хирургических отделений по всему миру, что подчеркивает общую проблему поддержания стерильности в соответствующих условиях.

Бактерии продемонстрировали самую высокую устойчивость к амоксициллину и ампициллину, за которыми следовали цефаклор, цефуроксим, цефадроксил и эритромицин. Устойчивость к амоксициллину снижалась при добавлении к амоксициллину клавулановой кислоты. *S. aureus* продемонстрировал самую высокую устойчивость к ампициллину и амоксициллину (пять изолятов), за которыми следовали амоксициллин/клавулановая кислота и эритромицин (три изолята), цефаклор (два изолята); только один изолят был чувствителен к цефадроксилому, цефтазидиму, цефуроксиму, цефиксиму и гентамицину, при этом все изоляты были чувствительны к остальным исследуемым противомикробным средствам. Самая высокая устойчивость выявлена у изолятов *P. aeruginosa*, за которыми следует *E. coli*, продемонстрировавшая разную устойчивость к 14 противомикробным средствам и чувствительность только к амикацину. Самая низкая устойчивость выявлена у коагулазонегативных стафилококков, *Enterobacter spp.* и *Bacillus spp.*, продемонстрировавших устойчивость к четырем, пяти, четырем противомикробным средствам соответственно. Оценка антибиотикограммы патогенов и показателя обсеменения обычно служит индикатором раннего предупреждения для своевременного вмешательства. В ходе данного исследования обнаружена значительная устойчивость к амоксициллину и ампициллину; эта тенденция согласуется с данными исследования, проведенного в слаборазвитых странах [29].

Однако в ходе другого исследования изоляты продемонстрировали устойчивость еще к двум препаратам: эритромицину и гентамицину. Такая устойчивость должна вызывать беспокойство, поскольку это одни из наиболее часто используемых и наименее дорогостоящих противомикробных средств. Применение противомикробных препаратов может обуславливать различия устойчивости, что подчеркивает необходимость мониторинга противомикробной терапии [30].

Временное распределение культур с наличием роста продемонстрировало более высокие показатели обсеменения в феврале (28,57%), марте (38,10%) и апреле (23,81%) со спадом в мае (9,52%), что может свидетельствовать о сезонных изменениях микробиологической нагрузки или флуктуациях уровня загруженности операционной и активности персонала. Такая тенденция возможна вследствие роста числа пациентов и хирургических операций в первые месяцы, что потенциально может приводить к более высокому риску обсеменения. Кроме того, это может говорить о нарушении протоколов уборки в периоды повышенной нагрузки. Спад показателей обсеменения в мае может быть связан с более качественной уборкой, снижением хирургической активности и изменениями условий окружающей среды. Такие результаты подчеркивают необходимость постоянного мониторинга и корректировки мер инфекционного контроля на протяжении года для устранения сезонных изменений риска обсеменения.

Результаты исследования существенно влияют на практику инфекционного контроля в ортопедических операционных. Выявление специфических очагов обсеменения, таких как кушетка, пол и стены, позволяет получить ценную информацию для целенаправленных вмешательств, цель которых — снижение микробиологической нагрузки в соответствующих зонах. Регулярная тщательная очистка этих поверхностей и использование эффективных средств дезинфекции необходимы для минимизации риска воздействия на пациента опасных патогенов. Кроме того, исследование подчеркивает важность поддержания стерильности хирургических инструментов и других критически важных предметов, используемых в операционных, о чем свидетельствует отсутствие роста бактерий на марле и инструментах. Результаты позволяют также предположить, что проводимое обучение персонала и обучение практикам инфекционного контроля, в особенности в части обслуживания и уборки зон высокого риска, чрезвычайно важны для поддержания низких показателей обсеменения.

ВЫВОДЫ

Микробиологический анализ ортопедических операционных в больнице Имама Хусейна выявил в целом низкий, но существенный уровень бактериального обсеменения и специфические патогены, угрожающие безопасности пациентов. Результаты исследования согласуются с данными аналогичных исследований, проводимых во всем мире, что говорит об универсальности проблемы поддержания стерильности в хирургических отделениях. Выявление очагов загрязнения создает предпосылки для целенаправленных вмешательств. Одновременно с этим временное распределение культур с наличием роста говорит о необходимости постоянного мониторинга и корректировки мер инфекционного контроля. И, наконец, исследование подчеркивает крайнюю важность строгих мер инфекционного контроля для предотвращения внутрибольничных инфекций и обеспечения безопасности пациентов, которым делают ортопедические операции.

Литература

1. Nimer NA. Nosocomial infection and antibiotic-resistant threat in the Middle East. *Infection and drug resistance*. 2022; p. 631–9.
2. Menakaya C, et al. Consenting patients for elective procedures during the pandemic: Are we consenting for risk of nosocomial COVID-19 infection. *Journal of Perioperative Practice*. 2022; 32 (10): 270–4.
3. Huang W. What Do We Need to Know to Prevent and Control Nosocomial Infections Completely?-Part 2. *Acta Scientific MICROBIOLOGY* (ISSN: 2581-3226). 2022; 5 (4).
4. Chauveaux D. Preventing surgical-site infections: measures other than antibiotics. *Orthopaedics & Traumatology: Surgery & Research*. 2015; 101 (1): S77–S83.
5. Li K, et al., Effectiveness of preoperative antibiotics in preventing surgical site infection after common soft tissue procedures of the hand. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 2018; 476 (4): 664–73.
6. Yousufuddin S, et al., Surgical Site Infection in Hip Fracture Surgery; Reducing the Incidence of Infection and Correlation With co Morbidities and Blood Parameters. *Int J Orthop*. 2018; 5: 891–5.
7. Stambough JB, et al. Decreased hospital costs and surgical site infection incidence with a universal decolonization protocol in primary total joint arthroplasty. *The Journal of arthroplasty*. 2017; 32 (3): 728–34.
8. McQueen RH, Ehnes BL. Antimicrobial Textiles and Infection Prevention — Clothes and Inanimate Environment, in *Infection Prevention: New Perspectives and Controversies*. Springer, 2022; p. 139–49.
9. Owen L, Laird K. The role of textiles as fomites in the healthcare environment: a review of the infection control risk. *PeerJ*. 2020; 8: e9790.
10. Andersen BM, Andersen BM. *Operation Department: Infection Control. Prevention and Control of Infections in Hospitals: Practice and Theory*. 2019; p. 453–89.
11. Swenson D. Review of current practice in preventing health care associated infections, in *Assurance of Sterility for Sensitive Combination Products and Materials*. Elsevier, 2020; p. 135–64.
12. Bali RK. Operating room protocols and infection control. *Oral and maxillofacial surgery for the clinician*. 2021; p. 173–94.
13. Dallolio L, et al. Surveillance of environmental and procedural measures of infection control in the operating theatre setting. *International journal of environmental research and public health*. 2018; 15 (1): 46.
14. Graveto JM, Costa PJ, Santos CI. Cell phone usage by health personnel: preventive strategies to decrease risk of cross infection in clinical context. *Texto & Contexto-Enfermagem*. 2018; 27: e5140016.
15. Chaman R, et al. Survey of prevalence and types of bacterial contamination of mobile phones of personnel employed in major wards of educational hospitals in Yasuj. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*. 2018; 10 (2).
16. Dancer SJ. Hospital cleaning: past, present, and future. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*. 2023; 12 (1): 80.
17. Schinas G, et al. Preventing multidrug-resistant bacterial transmission in the intensive care unit with a comprehensive approach: a policymaking manual. *Antibiotics*. 2023; 12 (8): 1255.
18. Garba R, et al. Microbial pattern in urine samples of post repaired vesico-vaginal fistula patients at Laure Fistula Center, Kano, Nigeria. *African Journal of Medicine and Medical Sciences*. 2022; 51 (4): 275–85.
19. Shukla A, et al. Surveillance of microbiological environment of operation theaters. *Cureus*. 2021; 13 (12).
20. Infection prevention and control in-service education and training curriculum. World Health Organization, 2024.
21. Odoom A, Tetteh-Quarcoo PB, Donkor ES. Prevalence of Hospital-Acquired Infections in Low- and Middle-Income Countries: Systematic Review and Meta-Analysis. *Asia Pacific Journal of Public Health*. 2024; p. 10105395251338002.
22. Nedopil AJ, Howell SM. Operating Room Methods to Reduce Infection in Total Knee Arthroplasty. *Infection in Knee Replacement*. 2022; p. 339–46.
23. Parvizi J, et al. Environment of care: Is it time to reassess microbial contamination of the operating room air as a risk factor for surgical site infection in total joint arthroplasty? *American journal of infection control*. 2017; 45 (11): 1267–72.
24. Mwita JC, et al. Key issues surrounding appropriate antibiotic use for prevention of surgical site infections in low- and middle-income countries: a narrative review and the implications. *International journal of general medicine*. 2021; 515–30.
25. Behera B, et al. Impact of modified CDC/NHSN surveillance definition on the incidence of CAUTI: a study from an Indian tertiary care hospital. *Journal of Infection Prevention*. 2021; 22 (4): 162–5.
26. Totty JP, et al. The impact of surgical site infection on hospitalisation, treatment costs, and health-related quality of life after vascular surgery. *International Wound Journal*. 2021; 18 (3): 261–8.
27. Okey-Kalu EU, et al. Antibigram and Plasmid Profile of Bacterial Isolates from Intensive Care Units in a Tertiary Healthcare Facility in Umuahia. *Journal of Human Environment and Health Promotion*. 2022; 8 (1): 10–14.
28. Abubakar S, et al. Spectrum of bacterial isolates among intensive care units patients in a tertiary hospital in northeastern Nigeria. *Indian J Sci Resour Technol*. 2014; 2 (6): 42–7.
29. Ramirez NS, et al. Identification, resistance, and susceptibility of microorganisms on healthcare workers' hands: a systematic review and meta-analysis. *Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção*. 2024; 14 (3): 1–13.
30. Mohammed A, et al. Bacterial contamination of operating theaters at a tertiary hospital in Bauchi, Northatsern Nigeria. *EJPMR*. 2017; 4 (4): 182–8.

References

1. Nimer NA. Nosocomial infection and antibiotic-resistant threat in the Middle East. *Infection and drug resistance*. 2022; p. 631–9.
2. Menakaya C, et al. Consenting patients for elective procedures during the pandemic: Are we consenting for risk of nosocomial COVID-19 infection. *Journal of Perioperative Practice*. 2022; 32 (10): 270–4.
3. Huang W. What Do We Need to Know to Prevent and Control Nosocomial Infections Completely?-Part 2. *Acta Scientific MICROBIOLOGY* (ISSN: 2581-3226). 2022; 5 (4).
4. Chauveaux D. Preventing surgical-site infections: measures other than antibiotics. *Orthopaedics & Traumatology: Surgery & Research*. 2015; 101 (1): S77–S83.
5. Li K, et al., Effectiveness of preoperative antibiotics in preventing surgical site infection after common soft tissue procedures of the hand. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 2018; 476 (4): 664–73.
6. Yousufuddin S, et al., Surgical Site Infection in Hip Fracture Surgery; Reducing the Incidence of Infection and Correlation With co Morbidities and Blood Parameters. *Int J Orthop*. 2018; 5: 891–5.
7. Stambough JB, et al. Decreased hospital costs and surgical site infection incidence with a universal decolonization protocol in primary total joint arthroplasty. *The Journal of arthroplasty*. 2017; 32 (3): 728–34.
8. McQueen RH, Ehnes BL. Antimicrobial Textiles and Infection Prevention — Clothes and Inanimate Environment, in *Infection Prevention: New Perspectives and Controversies*. Springer, 2022; p. 139–49.
9. Owen L, Laird K. The role of textiles as fomites in the healthcare environment: a review of the infection control risk. *PeerJ*. 2020; 8: e9790.
10. Andersen BM, Andersen BM. *Operation Department: Infection Control. Prevention and Control of Infections in Hospitals: Practice and Theory*. 2019; p. 453–89.
11. Swenson D. Review of current practice in preventing health

- care associated infections, in *Assurance of Sterility for Sensitive Combination Products and Materials*. Elsevier, 2020; p. 135–64.
12. Bali RK. Operating room protocols and infection control. *Oral and maxillofacial surgery for the clinician*. 2021; p. 173–94.
 13. Dalloio L, et al. Surveillance of environmental and procedural measures of infection control in the operating theatre setting. *International journal of environmental research and public health*. 2018; 15 (1): 46.
 14. Graveto JM, Costa PJ, Santos CI. Cell phone usage by health personnel: preventive strategies to decrease risk of cross infection in clinical context. *Texto & Contexto-Enfermagem*. 2018; 27: e5140016.
 15. Chaman R, et al. Survey of prevalence and types of bacterial contamination of mobile phones of personnel employed in major wards of educational hospitals in Yasuj. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*. 2018; 10 (2).
 16. Dancer SJ. Hospital cleaning: past, present, and future. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*. 2023; 12 (1): 80.
 17. Schinas G, et al. Preventing multidrug-resistant bacterial transmission in the intensive care unit with a comprehensive approach: a policymaking manual. *Antibiotics*. 2023; 12 (8): 1255.
 18. Garba R, et al. Microbial pattern in urine samples of post repaired vesico-vaginal fistula patients at Laure Fistula Center, Kano, Nigeria. *African Journal of Medicine and Medical Sciences*. 2022; 51 (4): 275–85.
 19. Shukla A, et al. Surveillance of microbiological environment of operation theaters. *Cureus*. 2021; 13 (12).
 20. Infection prevention and control in-service education and training curriculum. World Health Organization, 2024.
 21. Odoom A, Tetteh-Quarcoo PB, Donkor ES. Prevalence of Hospital-Acquired Infections in Low-and Middle-Income Countries: Systematic Review and Meta-Analysis. *Asia Pacific Journal of Public Health*. 2024; p. 10105395251338002.
 22. Nedopil AJ, Howell SM. Operating Room Methods to Reduce Infection in Total Knee Arthroplasty. *Infection in Knee Replacement*. 2022; p. 339–46.
 23. Parvizi J, et al. Environment of care: Is it time to reassess microbial contamination of the operating room air as a risk factor for surgical site infection in total joint arthroplasty? *American journal of infection control*. 2017; 45 (11): 1267–72.
 24. Mwita JC, et al. Key issues surrounding appropriate antibiotic use for prevention of surgical site infections in low-and middle-income countries: a narrative review and the implications. *International journal of general medicine*. 2021; 515–30.
 25. Behera B, et al. Impact of modified CDC/NHSN surveillance definition on the incidence of CAUTI: a study from an Indian tertiary care hospital. *Journal of Infection Prevention*. 2021; 22 (4): 162–5.
 26. Totty JP, et al. The impact of surgical site infection on hospitalisation, treatment costs, and health-related quality of life after vascular surgery. *International Wound Journal*. 2021; 18 (3): 261–8.
 27. Okey-Kalu EU, et al. Antibigram and Plasmid Profile of Bacterial Isolates from Intensive Care Units in a Tertiary Healthcare Facility in Umuahia. *Journal of Human Environment and Health Promotion*. 2022; 8 (1): 10–14.
 28. Abubakar S, et al. Spectrum of bacterial isolates among intensive care units patients in a tertiary hospital in northeastern Nigeria. *Indian J Sci Resour Technol*. 2014; 2 (6): 42–7.
 29. Ramírez NS, et al. Identification, resistance, and susceptibility of microorganisms on healthcare workers' hands: a systematic review and meta-analysis. *Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção*. 2024; 14 (3): 1–13.
 30. Mohammed A, et al. Bacterial contamination of operating theaters at a tertiary hospital in Bauchi, Northatsern Nigeria. *EJPMR*. 2017; 4 (4): 182–8.

ИММУНОРЕГУЛЯТОРНЫЙ ИНДЕКС КАК ВИЧ-АССОЦИИРОВАННЫЙ ФАКТОР ПРОГНОЗА ТЕЧЕНИЯ И ИСХОДА РАКА ЛЕГКОГО

П. С. Гаврилов^{1,2}✉, С. И. Кутукова^{1,2}, Д. А. Полежаев^{1,2}, В. Г. Пищик^{2,3}, Г. М. Манихас^{1,2}¹ Первый государственный медицинский университет имени И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия² Городской клинический онкологический диспансер, Санкт-Петербург, Россия³ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

В развитых странах благодаря успешной антиретровирусной терапии ВИЧ-неассоциированные опухоли являются одной из ведущих причин летальных исходов среди людей, живущих с ВИЧ. Злокачественные новообразования (ЗНО) легких занимают лидирующие позиции по частоте встречаемости и смертности, затрагивая лиц более молодого возраста по сравнению с общей популяцией. Несмотря на то что роль ВИЧ-инфекции в прямом механизме онкогенеза рака легкого не доказана, опосредованное через иммунодефицит влияние в том числе и на противоопухолевый иммунитет способствует более раннему развитию опухолевого процесса, вносит особенности в течение заболевания и в противоопухолевое лечение. Зачастую ВИЧ-инфекция является критерием исключения из большего числа клинических исследований в онкологии, и данная группа пациентов остается без внимания. Целью исследования было изучить влияние индекса CD4/CD8 как одного из ключевых маркеров состояния клеточного иммунитета на прогноз течения рака легкого в ходе противоопухолевого лечения. Анализировали данные 17 пациентов с ЗНО легких и ВИЧ-инфекцией и данные 31 пациента контрольной группы без ВИЧ, проходивших лечение с 2018 по 2023 г. В ходе анализа определены пороговый уровень индекса CD4/CD8, составивший $\leq 0,57$, и его динамика снижения более чем на 0,01, которые значимо отражали ухудшение общей выживаемости ($p < 0,05$) в ходе лечения рака легкого. Кроме того, в ходе сравнительного анализа основной и контрольной групп пациентов не было выявлено статистических значимых различий в выживаемости без прогрессирования и в числе линий терапии, что позволяет сделать предположение о сопоставимых результатах лечения больных раком легкого на фоне имеющейся ВИЧ-инфекции ($p > 0,05$).

Ключевые слова: рак легкого, ВИЧ-инфекция, ВИЧ-неассоциированные ЗНО, иммунорегуляторный индекс

Вклад авторов: П. С. Гаврилов — подготовка и редактирование текста, сбор данных, интерпретация результатов, анализ литературы; С. И. Кутукова — разработка концепции, статистическая обработка, научное редактирование; Д. А. Полежаев — разработка концепции, подготовка и редактирование текста; В. Г. Пищик, Г. М. Манихас — разработка концепции, научное руководство.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом Первого государственного медицинского университета имени И. П. Павлова (протокол № 2 от 21 марта 2021 г.).

✉ **Для корреспонденции:** Павел Сергеевич Гаврилов
пр. Ветеранов, д. 56, г. Санкт-Петербург, 198205, Россия; gavrlov.pavel2012@yandex.ru

Статья получена: 20.07.2025 **Статья принята к печати:** 05.08.2025 **Опубликована онлайн:** 16.08.2025

DOI: 10.24075/vrgmu.2025.037

Авторские права: © 2025 принадлежат авторам. **Лицензиат:** РНИМУ им. Н.И. Пирогова. Статья размещена в открытом доступе и распространяется на условиях лицензии Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

CD4/CD8 RATIO AS A HIV-ASSOCIATED FACTOR OF THE LUNG CANCER COURSE AND OUTCOME PROGNOSIS

Gavrilov PS^{1,2}✉, Kutukova SI^{1,2}, Polezhaev DA^{1,2}, Pischik VG^{2,3}, Manikhas GM^{1,2}¹ Pavlov University, Saint Petersburg, Russia² City Clinical Oncology Dispensary, Saint Petersburg, Russia³ Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

Non-AIDS-defining cancers represent one of the leading causes of death among people living with HIV in developed economies due to successful antiretroviral therapy. Malignant neoplasms (MNs) of the lung occupy leading positions in prevalence and mortality, affecting younger people compared to the general population. Despite the fact that the role of HIV in the direct mechanism underlying the lung cancer carcinogenesis has not been proven, the immunodeficiency-mediated effect, including that on the anti-tumor immunity, contributes to the earlier neoplastic process development and to the features of the disease course and anti-tumor treatment. HIV often becomes an exclusion criterion for multiple oncology clinical trials, and this group of patients is overlooked. The study aimed to assess the impact of the CD4/CD8 ratio as one of the key markers of the state of cell-mediated immunity on the lung cancer course prognosis during anti-tumor treatment. The data of 17 HIV patients with MNs of the lung and 31 non-HIV patients of the control group, who underwent treatment in 2018–2023, were analyzed. The analysis determined the threshold CD4/CD8 ratio value (≤ 0.57) and the fact of its decrease by more than 0.01, which reflected a significant overall survival worsening ($p < 0.05$) during lung cancer treatment. Furthermore, comparative analysis of patients of the index and control groups revealed no significant differences in progression-free survival and the number of therapy lines, which suggests comparable treatment outcomes in patients with lung cancer against the background of existing HIV ($p > 0.05$).

Keywords: lung cancer, HIV, non-AIDS-defining cancers, CD4/CD8 ratio

Author contribution: Gavrilov PS — manuscript writing and editing, data acquisition, interpretation of the results, literature review; Kutukova SI — developing the concept, statistical processing, academic editing; Polezhaev DA — developing the concept, manuscript writing and editing; Pischik VG, Manikhas GM — developing the concept, academic advising.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee Pavlov First Saint Petersburg State Medical University (protocol No. 2 dated 21 March 2021).

✉ **Correspondence should be addressed:** Pavel S. Gavrilov
pr. Veteranov, 56, Saint Petersburg, 198205, Russia; gavrlov.pavel2012@yandex.ru

Received: 20.07.2025 **Accepted:** 05.08.2025 **Published online:** 16.08.2025

DOI: 10.24075/brsmu.2025.037

Copyright: © 2025 by the authors. **Licensee:** Pirogov University. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Благодаря государственной стратегии противодействию распространения ВИЧ-инфекции в Российской Федерации (РФ), широкому охвату и доступности современной антиретровирусной терапии (АРВТ) произошли значительные изменения в структуре смертности и увеличение продолжительности жизни среди людей с ВИЧ. С увеличением общей выживаемости и возраста ВИЧ-инфицированных возрастает и доля злокачественных новообразований (ЗНО) в структуре заболеваемости и смертности данной популяции. В настоящее время в индустриально развитых странах ВИЧ-неассоциированные опухоли приводят к большему количеству летальных исходов, чем ВИЧ-ассоциированные, гепатит С или сердечно-сосудистые заболевания. Это вторая по частоте (после СПИДа) причина смерти среди ВИЧ-инфицированных пациентов [1, 2].

В РФ и русскоязычных источниках принято выделять ВИЧ-ассоциированные опухоли (ВАО), к которым относятся саркома Капоши, первичная лимфома центральной нервной системы, неходжкинские лимфомы, инвазивный рак шейки матки. Их выявление свидетельствует о наличии стадии СПИДа у пациента с ВИЧ-инфекцией. Также отдельно выделены ВИЧ-неассоциированные опухоли (ВНАО), которые наиболее часто встречаются на ранних стадиях ВИЧ-инфекции (гепатоцеллюлярный рак, рак легкого, плоскоклеточный рак головы и шеи, рак анального канала, лимфома Ходжкина) [3–5].

В одном из самых крупных исследований среди популяции ВИЧ-инфицированных США, Европы и Австралии D:A:D 3 (176 775 больных ВИЧ, из них 880 случаев ВНАО с 2004 по 2010 г.) отмечены наиболее часто встречаемые ВНАО: рак легкого (0,79/1000 человек/год), лимфома Ходжкина (0,63/1000 человек/год) и рак анального канала (0,45/1000 человек/год) [6]. В общенациональном Японском исследовании 2024 г. (Longitudinal Annual Survey of HIV/AIDS Referral Hospitals in Japan From 1999 to 2021: Trend in Non-AIDS-defining Cancers Among Individuals Infected With HIV-1) продемонстрирована тенденция роста случаев заболеваемости ВНАО за период с 1999 по 2021 г., среди которых рак легкого был наиболее встречаемой формой ЗНО (14%) [7].

У ВИЧ-инфицированных пациентов рак легкого диагностируется в среднем на десять лет раньше. Даже в группе некурящих пациентов ВИЧ был связан с четырехкратным увеличением риска смерти от рака легкого по сравнению с общей популяцией, и по данным того же японского исследования по смертности рак легкого уступал только раку поджелудочной железы [8].

Несмотря на снижение в 2023 г. показателя заболеваемости ВИЧ-инфекцией с 43,29 до 40,04 на 100 тыс. населения (на 7,5% по сравнению с 2022 г.), число новых случаев заболевания превышает число умерших, а общее число людей в России, живущих с ВИЧ, продолжает расти [9]. Актуальность лечения данной группы пациентов продолжает возрастать с каждым годом. Однако ВИЧ-инфекция является критерием исключения из большинства многоцентровых рандомизированных клинических исследований лечения онкологических заболеваний. И, как следствие, распространенность и характер онкологической патологии у ВИЧ-инфицированных больных изучены в недостаточной мере, в том числе рак легкого, его клинические и морфологические особенности на фоне ВИЧ-опосредованных факторов. Прогноз, который был крайне неблагоприятным в эпоху отсутствия антиретровирусной терапии, теперь может быть

практически аналогичен прогнозам у людей без ВИЧ при междисциплинарном подходе, приверженности пациента к лечению и своевременной профилактике.

В исследовании, опубликованном в июльском выпуске 2025 г. *Journal of Thoracic Oncology*, осуществлялся сравнительный анализ иммуногеномных характеристик немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) у людей, живущих с ВИЧ (ЛЖВ), и иммунокомпетентных пациентов. ВИЧ значительно снижает как системный, так и местный противоопухолевый иммунитет, несмотря на схожие молекулярные профили опухоли через глубокое и стойкое нарушение взаимодействия между CD4- и CD8-Т-клетками. Это может способствовать ухудшению прогноза развития НМРЛ у ЛЖВ даже в случаях вирусологического контроля [10]. Одним из ВИЧ-опосредованных факторов является иммунорегуляторный индекс, который в ряде исследований показал свою значимость в качестве биомаркера в скрининге рака легкого, а также фактора неблагоприятного прогноза [11–13].

Таким образом, цель данного исследования — изучить влияние ВИЧ-ассоциированных иммунологических факторов на прогноз течения рака легкого в ходе противоопухолевого лечения, а также анализ выживаемости без прогрессирования в сравнении с контрольной группой.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Критерии включения в исследование: наличие злокачественного новообразования легкого; наличие зарегистрированной ВИЧ-инфекции. Критерии исключения: наличие в крови уровня CD4-лимфоцитов < 200 кл/мл; обострение хронических инфекционных заболеваний.

Нами проведено проспективное исследование диагностической ценности CD4/CD8-индекса в качестве ВИЧ-опосредованного предиктора летального исхода рака легкого. В основную группу исследования были включены 17 пациентов с ЗНО легких I–IV стадий и ВИЧ-инфекцией, в контрольную группу — 31 человек с ЗНО легких без ВИЧ, проходивших лечение с 2018 по 2023 г. в СПб ГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер».

Все 17 пациентов, включенных в исследование, проходили антиретровирусную терапию согласно действующим клиническим рекомендациям по лечению ВИЧ-инфекции соответствующего года с оценкой вирусной нагрузки и состояния клеточного иммунитета после каждого четного цикла лекарственной терапии или через месяц после хирургического лечения. Совместно с врачом-инфекционистом проводилась оценка необходимости коррекции антиретровирусных препаратов (АРВП) с целью уменьшения перекрестной токсичности в соответствии со схемой лекарственного противоопухолевого лечения. Пациенты, включенные в основную и контрольную группы, были сопоставимы по основным клинικο-демографическим показателям (табл. 1, 2).

Для проведения статистического анализа использовали язык программирования статистических расчетов R версии 4.1.1 (R Core Team, 2020) [14] и программное обеспечение MedCalc (ver. 23.1.1).

За уровень статистической значимости принимали значение $p < 0,05$. Значения p представлены в отчете с точностью до сотых в случае, если его величина выше 0,05 и с точностью до тысячных при $p < 0,05$.

Описание качественных признаков представлено в виде абсолютного числа наблюдений (n), долей в процентах (%) и 95%-го доверительного интервала (ДИ) для долей.

Таблица 1. Характеристика пациентов группы с ВИЧ и группы контроля

Группы по возрасту на момент выявления онкологического заболевания (классификация ВОЗ)		
Группа	Параметр	Частота (доля)
Пациенты с ВИЧ	Молодой возраст (18–44 года)	5/17 (29,5%)
	Средний возраст (45–59 лет)	8/17 (47%)
	Пожилкой возраст (60–74 года)	4/17 (23,5%)
Пациенты без ВИЧ	Молодой возраст (18–44 года)	0/32 (0%)
	Средний возраст (45–59 лет)	15/32 (46,9%)
	Пожилкой возраст (60–74 года)	17/32 (53,1%)
Распределение пациентов по полу		
Группа	Параметр	Частота (доля)
Пациенты с ВИЧ	Мужской пол	12/17 (70,6%)
	Женский пол	5/17 (29,4%)
Пациенты без ВИЧ	Мужской пол	19/32 (61,3%)
	Женский пол	12/32 (38,7%)
Стадия I–IV онкологического заболевания		
Группа	Параметр	Частота (доля)
Пациенты с ВИЧ	IA	2/17 (11,8%)
	IB	0/17 (0%)
	IIA	1/17 (5,9%)
	IIB	2/17 (11,8%)
	IIIA	2/17 (11,8%)
	IIIB	1/17 (5,9%)
	IV	7/17 (41,2%)
	IVA	1/17 (5,9%)
	IVB	1/17 (5,9%)
Пациенты без ВИЧ	IA	4/32 (12,9%)
	IB	1/32 (3,2%)
	IIA	0/32 (0%)
	IIB	3/32 (9,7%)
	IIIA	6/32 (19,4%)
	IIIB	7/32 (22,6%) 10,3–41,5%
	IV	7/32 (22,6%)
	IVA	3/32 (9,7%)
	IVB	0/32 (0%)
Гистологический тип: Аденокарцинома среди пациентов с ВИЧ и без ВИЧ		
Группа	Частота (доля)	
Пациенты с ВИЧ	7/17 (41,2%)	
Пациенты без ВИЧ	19/31 (61,3%)	
Гистологический тип: Плоскоклеточный рак с ВИЧ и без ВИЧ		
Группа	Частота (доля)	
Пациенты с ВИЧ	5/17 (29,4%)	
Пациенты без ВИЧ	8/31 (25,8%)	
Пациенты с ВИЧ	4/17 (23,5%)	
Пациенты без ВИЧ	3/31 (9,7%)	
Гистологический тип: Атипичный карциноид с ВИЧ и без ВИЧ		
Группа	Частота (доля)	
Пациенты с ВИЧ	1/17 (5,9%)	
Пациенты без ВИЧ	0/31 (0%)	
Распределение пациентов по полу		
Параметр		Частота (доля)
Мужской пол		12/17 (70,6%) 44–88,6%
Женский пол		5/17 (29,4%) 11,4–56%

Таблица 2. Характеристика группы пациентов с ВИЧ

Стадии ВИЧ-инфекции	
Параметр	Частота (доля)
3	1/17 (5,9%)
3 ремиссия	1/17 (5,9%)
4А ремиссия	3/17 (17,6%)
4Б ремиссия	5/17 (29,4%)
4В прогрессирование	5/17 (29,4%)
4В ремиссия	2/17 (11,8%)
Вирусная нагрузка на момент выявления онкологического заболевания (копий/мл)	
N	17
M	35106,41
SD	89540,49
95% ДИ	–7457,65; 77670,47
Min	20
Max	364467
Me	1052
IQR	40; 14696
CD4-клетки на момент выявления онкологического заболевания (кл/мл)	
N	17
M	370,94
SD	120,99
95% ДИ	313,43; 428,45
Min	252
Max	631
Me	317
IQR	277; 445
CD4/CD8-индекс на момент выявления онкологического заболевания	
N	17
M	0,7
SD	0,31
95% ДИ	0,55; 0,85
Min	0,13
Max	1,11
Me	0,79
IQR	0,48; 0,92

Для анализа выживаемости использовали метод Каплана–Мейера, сравнение кривых выживаемости между пациентами в группах выполняли с помощью лог-рангового теста.

Для статистически значимых моделей проводили анализ их чувствительности и специфичности с помощью ROC-кривых. Порог отсечения оценки по модели (cut-off) определяли методом максимальной суммарной чувствительности и специфичности либо методом определения баланса чувствительности и специфичности с определением индекса Йодена.

По результатам анализа предикторов в однофакторных моделях все найденные предикторы были объединены в многофакторную модель для анализа связи показателей в комбинации с вероятностью летального исхода. Многофакторную модель логистической регрессии признавали статистически значимой при уровнях $p < 0,05$ для всех независимых признаков.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Значение иммунорегуляторного индекса у пациентов основной группы варьировало от 0,13 до 1,11, медиана составила 0,79.

С помощью ROC-анализа произведена оценка влияния исходного уровня иммунорегуляторного индекса и его динамики в ходе противоопухолевого лечения на общую выживаемость (ОВ) больных основной группы. Определены оптимальные пороговые значения рассматриваемых показателей. Проведенный однофакторный анализ показал значимое влияние иммунорегуляторного индекса на общую выживаемость пациентов с ЗНО легких с сопутствующей ВИЧ-инфекцией ($p < 0,005$) (табл. 3, рис. 1, 2).

Проведен многофакторный анализ с помощью построения модели пропорциональных рисков Кокса, в который были включены иммунорегуляторный индекс и его динамика в ходе противоопухолевого лечения, оказавшие

Таблица 3. Результаты однофакторного анализа влияния рассматриваемых клиничко-морфологических и иммунологических факторов на ОВ пациентов с ВИЧ-инфекцией

Показатель	CD4/CD8 исходный	Динамика CD4/CD8 в ходе терапии
Оптимальное пороговое значение (cut-off)	$\leq 0,57$	Снижение не более чем на 0,01 от исходного уровня

CD4/CD8-клетки на момент выявления онкологического заболевания

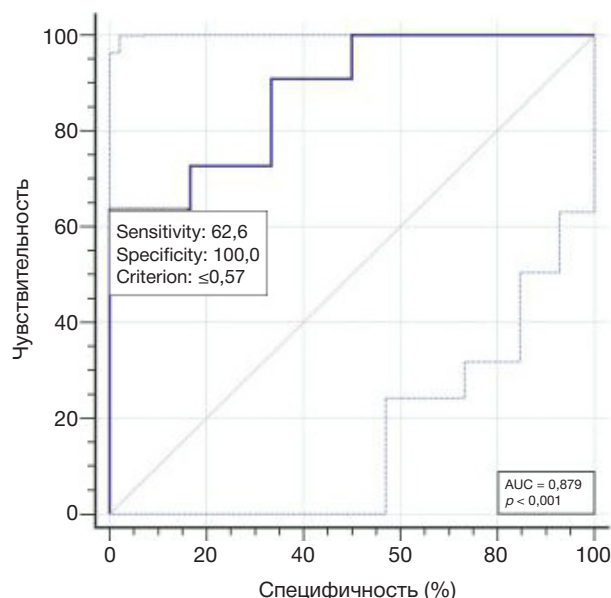


Рис. 1. Результаты ROC-анализа с целью определения пороговых значений CD4/CD8-индекса (индекс Йодена) на момент выявления рака легкого у ВИЧ-инфицированных пациентов

свое влияние на выживаемость в ходе однофакторного ROC-анализа. По результатам многофакторного анализа выявлено, что независимыми прогностическими факторами, значимо влияющими на показатель ОВ пациентов с ЗНО легких и ВИЧ-инфекцией, оказались исходный уровень иммунорегуляторного индекса до начала противоопухолевого лечения и его динамика на фоне проводимой терапии (общая значимость модели: $p < 0,0001$, $AUC = 0,920$ (95% ДИ 0,851–0,989)) (табл. 4).

При пороговом значении индекса CD4/CD8, равном 0,57, медиана ОВ у пациентов, у которых уровень индекса превышал пороговое значение на момент среза данных, не достигнута и значимо отличалась от медианы ОВ пациентов с пороговым или более низким значением иммунорегуляторного индекса, где она составила 3 месяца ($p = 0,0117$) (рис. 3).

Медиана ОВ пациентов, у которых иммунорегуляторный индекс снизился более чем на 0,01, составила 4 месяца и была значимо меньше, чем медиана ОВ пациентов,

Динамика индекса CD4/CD8

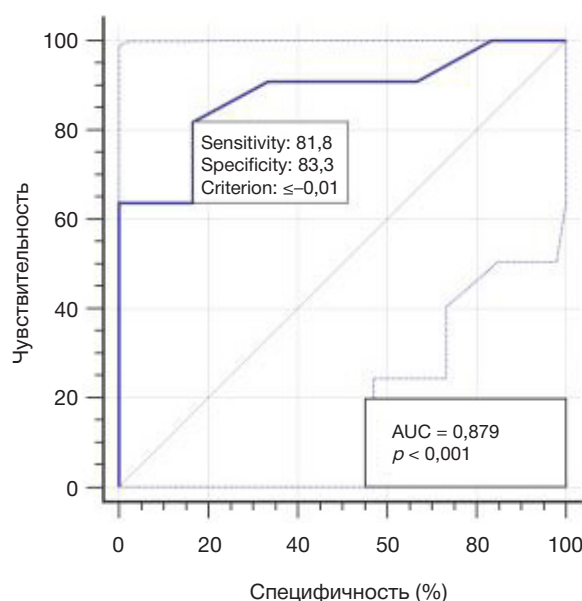


Рис. 2. Результаты ROC-анализа с целью определения пороговых значений динамики CD4/CD8-индекса (индекс Йодена) в ходе противоопухолевой терапии у ВИЧ-инфицированных пациентов

Таблица 4. Результаты многофакторного анализа влияния рассматриваемых клинико-морфологических и иммунологических факторов на ОВ пациентов с ВИЧ-инфекцией ($p < 0,0001$, AUC = 0,920 (95% ДИ 0,851–0,989))

Показатели, включенные в модель по результатам однофакторного анализа	ОР (95% ДИ)	p-value
Исходный уровень CD4/CD8	0,0006 (0,00–0,19)	0,0117
Динамика индекса CD4/CD8 в ходе лечения (по сравнению с исходным значением)	0,0001 (0,00–0,27)	0,022

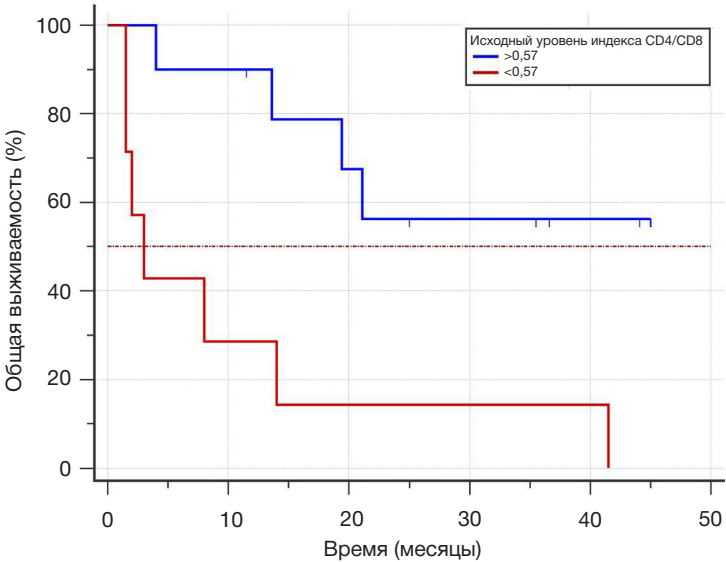


Рис. 3. Результаты многофакторного анализа: общая выживаемость в зависимости от исходного уровня иммунорегуляторного индекса CD4/CD8 у ВИЧ-инфицированных пациентов

у которых индекс-CD4/CD8 не снижался до порогового значения ($p = 0,0220$) (рис. 4).

Кроме того, при прогнозировании летального исхода выявлена прямая связь с мужским полом среди ВИЧ-инфицированных больных раком легкого. Вероятность наступления летального исхода у мужчин в 5,27 раза выше, чем у женщин ($p < 0,05$) (рис. 5).

Лечение рака легкого у ВИЧ-инфицированных в основной группе осуществляли согласно клиническим рекомендациям соответствующего года. Хирургическому лечению подверглись пять (16,1%) пациентов, 14 (45,2%) получили комплексное лечение, и лекарственную терапию в лечебном режиме проводили восьми (47,2%) пациентам. Шестнадцать из 17 пациентов назначили противоопухолевое лекарственное лечение и лишь

один (5,8%) пациент с мелкоклеточным раком легкого умер до начала химиотерапии. В данной выборке пациентов лучевую терапию как метод лечения местнораспространенных форм рака легкого не назначали.

При сравнительном анализе статистически значимых различий по числу линий терапии и выживаемостью без прогрессирования между пациентами с ВИЧ и без ВИЧ не обнаружено (табл. 5).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Низкий уровень CD4/CD8-индекса отражает дезорганизацию и дисфункцию иммунной системы, включая противоопухолевый иммунитет и коррелирует со степенью распространения рака легкого, следовательно, косвенно

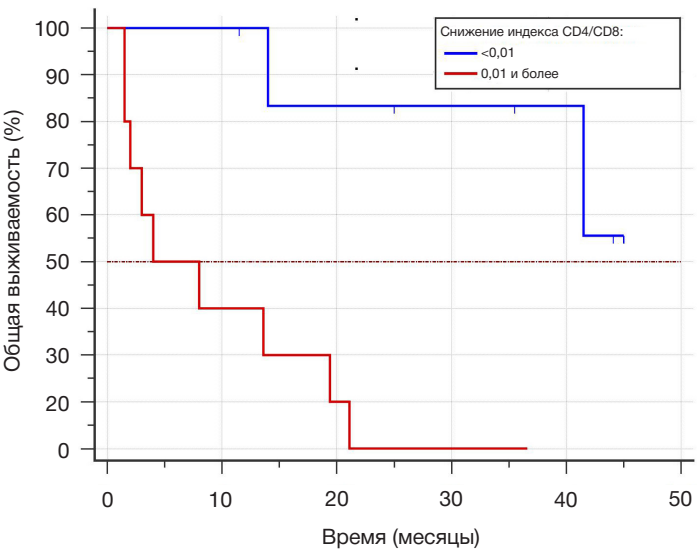


Рис. 4. Результаты многофакторного анализа: общая выживаемость в зависимости от динамики уровня иммунорегуляторного индекса на фоне противоопухолевого лечения у ВИЧ-инфицированных пациентов

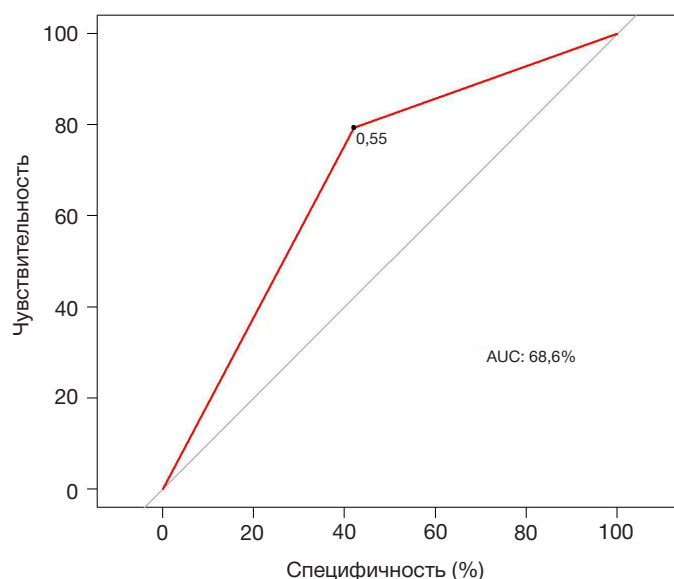


Рис. 5. Зависимость вероятности летального исхода от показателя «мужской пол» у ВИЧ-инфицированных пациентов

и с тяжестью течения опухолевого процесса [15], а также с потенциальной эффективностью противоопухолевой терапии. Пороговое значение уровня иммунорегуляторного индекса 0,57 и менее, а также его уменьшение в ходе лечения на 0,01, как ВИЧ-опосредованный предиктор летального исхода, значимо отражает неблагоприятный прогноз при раке легкого на фоне сопутствующей ВИЧ-инфекции, что может быть использовано в клинической практике ($p < 0,05$).

В ходе анализа эффективности противоопухолевого лечения в сравнении с группой контроля пациентов без ВИЧ-инфекции статистически значимых различий по числу линий терапии и выживаемости без прогрессирования между пациентами не обнаружено, что показывает современные возможности одномоментного лечения рака легкого и контроля ВИЧ-инфекции при мультидисциплинарном подходе с регулярной оценкой показателей клеточного иммунитета.

Наличие зависимости более высокой летальности и мужского пола указывает на непосредственное влияние ВИЧ-инфекции в процессах онкогенеза рака легкого, помимо курения, так как исторически люди, живущие с ВИЧ, более подвержены табакокурению в обоих полах.

ВЫВОДЫ

При прогнозировании вероятности летального исхода в зависимости от ВИЧ-ассоциированных предикторов при раке легкого значимо оказывали свое влияние на ОВ исходный уровень индекса-CD4/CD8 и его динамика в ходе противоопухолевого лечения ($p < 0,05$). Выявление данных предикторов позволяет определить группу повышенного риска смерти от рака легкого среди ВИЧ-инфицированных пациентов, которые требуют интенсификации терапии и дополнительного обсуждения тактики лечения больного с врачом-инфекционистом, на предмет возможной коррекции АРВТ.

Таблица 5. Выживаемость без прогрессирования по линиям терапии в основной группе ВИЧ-инфицированных и группе контроля

Группа	Параметр	Число линий терапии	ВБП 1-я линия терапии, месяцы	ВБП 2-я линия терапии, месяцы	ВБП 3-я линия терапии, месяцы	ВБП 4-я линия терапии, месяцы
Пациенты с ВИЧ	N	17	16	6	2	1
	M	1,47	15,24	7,43	2,99	0,54
	SD	0,94	16,49	5,64	3,75	—
	95% ДИ	1,02; 1,92	7,4; 23,08	4,75; 10,11	1,21; 4,77	—
	Min	0	0,92	1,61	0,34	0,54
	Max	4	44,75	14,17	5,64	0,54
	Me	1	9,3	6,47	2,99	0,54
	IQR	1; 2	1,52; 28,9	2,64; 12,48	1,67; 4,31	0,54; 0,54
Пациенты без ВИЧ	N	31	31	16	7	2
	M	1,81	13,96	6,98	4,86	1,83
	Me	2	9,61	6,51	3,58	1,83
	IQR	1; 2	5,37; 24,78	3,16; 8,71	2,76; 6,8	1,41; 2,26
Критерий		Манна-Уитни	Манна-Уитни	t-критерий Стьюдента	Манна-Уитни	Манна-Уитни
Значение p между группами		0,21	0,7	0,87	0,67	0,67

Примечание: стандартное отклонение и 95% ДИ для среднего значения времени до прогрессирования во время 4-й линии терапии в группе пациентов с ВИЧ рассчитать невозможно, так как значение данного показателя в этой группе присутствовало всего для одного пациента (помечено знаком «—»).

Подобная стратификация может являться дополнительным аргументом не редуцировать дозу химиопрепаратов на фоне гематологических и иных токсических осложнений или пограничном функциональном статусе либо послужить основанием для пересмотра назначения антиретровирусных препаратов. Регулярная лабораторная оценка состояния

клеточного иммунитета является неотъемлемой частью в комплексном подходе лечения данной группы пациентов. При разработке и внедрении в клиническую практику алгоритмов ведения пациентов с сопутствующей ВИЧ-инфекцией результаты противоопухолевого лечения рака легкого могут быть сопоставимы с общей популяцией.

Литература

- Smith CJ, Ryom L, Weber R, et al. Trends in underlying causes of death in people with HIV from 1999 to 2011 (D:A:D): a multicohort collaboration. *Lancet*. 2014; 384: 241–8.
- Trickey A, Sabin CA, Burkholder G, et al. Life expectancy after 2015 of adults with HIV on long-term antiretroviral therapy in Europe and North America: a collaborative analysis of cohort studies. *Lancet HIV*. 2023; 10 (5): 295–307.
- Centers for Disease Control and Prevention. HIV Surveillance Report, 2016. Available from: <http://www.cdc.gov/hiv/library/reports/hiv-surveillance.html>. Published November 2017. Accessed June 2019.
- Orenstein JM. Ultrastructure of HIV/AIDS. *Ultrastruct Pathol*. 2002; 26: 245–50.
- Некрасова А. В. Клинико-морфологическая характеристика, результаты лечения и прогноз злокачественных новообразований при ВИЧ-инфекции. Обнинск, 2021. Доступно по ссылке: https://kgma.info/files/dissovet/diss_nav_22_12_2021.pdf.
- Worm SW, Bower M, Reiss P, et al. Non-AIDS defining cancers in the D:A:D study-time trends and predictors of survival: a cohort study. *BMC Infect Dis*. 2013; 13: 471. DOI: 10.1186/1471-2334-13-471.
- Tanaka T, Oshima K, Kawano K, et al. Nationwide Longitudinal Annual Survey of HIV/AIDS Referral Hospitals in Japan From 1999 to 2021: Trend in Non-AIDS-defining Cancers Among Individuals Infected With HIV-1. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2024; 96 (1): 1–10. DOI: 10.1097/QAI.0000000000003389.
- Marcus JL, Chao C, Leyden WA, et al. Survival among HIV-infected and HIV-uninfected individuals with common non-AIDS-defining cancers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2015; 24 (8): 1167–73. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-14-1079.
- ВИЧ-инфекция в Российской Федерации на 31 декабря 2022 г. Данные получены в 1987–2023 гг. из территориальных центров по профилактике и борьбе со СПИДом (или иных уполномоченных организаций) и территориальных Управлений Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Специализированный научно-исследовательский отдел по профилактике и борьбе со СПИДом ФБУН Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора. Доступно по ссылке: <http://www.hivruussia.info/wp-content/uploads/2023/09/Spravka-VICH-v-Rossii-na-31.12.2022.pdf>.
- Abbar B, Labreche K, Cadranet J, et al. Human Immunodeficiency Virus Impairs Immune Responses to Tumor Neoepitopes Without Altering Mutational Profiles in NSCLC. *J Thorac Oncol*. 2025; 20 (7): 897–911. DOI: 10.1016/j.jtho.2025.02.001. Epub 2025 Feb 7. PMID: 39923848.
- Castilho JL, Bian A, Jenkins CA, et al. North American AIDS Cohort Collaboration on Research and Design (NA-ACCORD) of the International Epidemiology Databases to Evaluate AIDS (IeDEA). CD4/CD8 Ratio and Cancer Risk Among Adults With HIV. *J Natl Cancer Inst*. 2022; 114 (6): 854–62.
- Clifford GM, Lise M, Franceschi S, et al. CD4/CD8 ratio and lung cancer risk. *Lancet HIV*. 2017; 4 (3): 103.
- Klugman M, Fazzari M, Xue X, et al. The associations of CD4 count, CD4/CD8 ratio, and HIV viral load with survival from non-small cell lung cancer in persons living with HIV. *AIDS Care*. 2022; 34 (8): 1014–21. DOI: 10.1080/09540121.2021.1934380. Epub 2021 Jun 1. PMID: 34074183; PMCID: PMC8633167.
- R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. 2020.
- Манихас Г. М., Захаренко А. А., Полежаев Д. А. и др. Определение CD4/CD8-индекса, как возможного критерия тяжести течения и прогноза рака легкого среди ВИЧ-инфицированных. *Паллиативная медицина и реабилитация*. 2023; 1: 15–19.
- Smith CJ, Ryom L, Weber R, et al. Trends in underlying causes of death in people with HIV from 1999 to 2011 (D:A:D): a multicohort collaboration. *Lancet*. 2014; 384: 241–8.
- Trickey A, Sabin CA, Burkholder G, et al. Life expectancy after 2015 of adults with HIV on long-term antiretroviral therapy in Europe and North America: a collaborative analysis of cohort studies. *Lancet HIV*. 2023; 10 (5): 295–307.
- Centers for Disease Control and Prevention. HIV Surveillance Report, 2016. Available from: <http://www.cdc.gov/hiv/library/reports/hiv-surveillance.html>. Published November 2017. Accessed June 2019.
- Orenstein JM. Ultrastructure of HIV/AIDS. *Ultrastruct Pathol*. 2002; 26: 245–50.
- Nekrasova AV. Kliniko-morfologicheskaya kharakteristika, rezul'taty lecheniia i prognoz zlokachestvennykh novoobrazovani pri VICH-infektsii. Obninsk, 2021. Dostupno po ssylke: https://kgma.info/files/dissovet/diss_nav_22_12_2021.pdf.
- Worm SW, Bower M, Reiss P, et al. Non-AIDS defining cancers in the D:A:D study-time trends and predictors of survival: a cohort study. *BMC Infect Dis*. 2013; 13: 471. DOI: 10.1186/1471-2334-13-471.
- Tanaka T, Oshima K, Kawano K, et al. Nationwide Longitudinal Annual Survey of HIV/AIDS Referral Hospitals in Japan From 1999 to 2021: Trend in Non-AIDS-defining Cancers Among Individuals Infected With HIV-1. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2024; 96 (1): 1–10. DOI: 10.1097/QAI.0000000000003389.
- Marcus JL, Chao C, Leyden WA, et al. Survival among HIV-infected and HIV-uninfected individuals with common non-AIDS-defining cancers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2015; 24 (8): 1167–73. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-14-1079.
- VICH-infektsiia v Rossiiskoi Federatsii na 31 dekabria 2022 g. Dannye polucheny v 1987–2023 gg. iz territorial'nykh tsentrov po profilaktike i bor'be so SPIDom (ili inyykh upolnomochennykh terriorial'nykh Upravlenii Federal'noi sluzhby po nadzoru v sfere zashchity prav potrebitelei i blagopoluchiiia cheloveka. Spetsializirovannyi nauchno-issledovatel'skii otдел po profilaktike i bor'be so SPIDom FBUN Tsentral'nogo NII epidemiologii Rospotrebnadzora. Dostupno po ssylke: <http://www.hivruussia.info/wp-content/uploads/2023/09/Spravka-VICH-v-Rossii-na-31.12.2022.pdf>.
- Abbar B, Labreche K, Cadranet J, et al. Human Immunodeficiency Virus Impairs Immune Responses to Tumor Neoepitopes Without Altering Mutational Profiles in NSCLC. *J Thorac Oncol*. 2025; 20 (7): 897–911. DOI: 10.1016/j.jtho.2025.02.001. Epub 2025 Feb 7. PMID: 39923848.
- Castilho JL, Bian A, Jenkins CA, et al. North American AIDS Cohort Collaboration on Research and Design (NA-ACCORD) of the International Epidemiology Databases to Evaluate AIDS (IeDEA). CD4/CD8 Ratio and Cancer Risk Among Adults With HIV.

- J Natl Cancer Inst. 2022; 114 (6): 854–62.
12. Clifford GM, Lise M, Franceschi S, et al CD4/CD8 ratio and lung cancer risk. *Lancet HIV*. 2017; 4 (3): 103.
 13. Klugman M, Fazzari M, Xue X, et al. The associations of CD4 count, CD4/CD8 ratio, and HIV viral load with survival from non-small cell lung cancer in persons living with HIV. *AIDS Care*. 2022; 34 (8): 1014–21. DOI: 10.1080/09540121.2021.1934380. Epub 2021 Jun 1. PMID: 34074183; PMCID: PMC8633167.
 14. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. 2020.
 15. Manikhas GM, Zakharenko AA, Polezhaev DA, et al. Definition of the CD4/CD8 index as a possible criterion for the severity of the course and prognosis of lung cancer among HIV-infected people. *Palliative medicine and rehabilitation*. 2023; 1:15-19.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНОТИПА СТАРЕНИЯ ПО ИЗМЕНЕНИЮ СПОНТАННОЙ И ИНДУЦИРОВАННОЙ ПРОДУКЦИИ ИНТЕРЛЕЙКИНА-6 И ИНТЕРЛЕЙКИНА-10 *IN VITRO*В. В. Греченко, Т. В. Громова [✉], А. Д. Огурцова, Т. Г. Мурадян, Э. Р. Журавлева, Л. В. Ганковская

Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

В процессе старения изменения в иммунной системе сопровождаются развитием системного стерильного воспаления «inflammaging». Выделяют успешный и патологический фенотипы старения. Степень развития «inflammaging» во многом зависит от соотношения про- и противовоспалительных медиаторов, особенно ИЛ-6 и ИЛ-10. Целью исследования было провести анализ продукции ИЛ-6 и ИЛ-10 в культурах мононуклеарных клеток (МНК) периферической крови пациентов как возможного подхода определения фенотипа старения. В работу включены данные пациентов пожилого возраста ($n = 80$), старческого возраста ($n = 100$) и долгожителей ($n = 30$), среди которых выделены подгруппы с успешным и патологическим фенотипами, а также группы сравнения (молодых лиц). Проводили оценку коэффициента стимуляции (КС) по соотношению уровней стимулированной и спонтанной выработки цитокинов. Для успешного фенотипа в пожилом, старческом возрасте и у долгожителей выявлено снижение КС ИЛ-6 до 5,3 [2,2–14,3] ($p < 0,01$), 5,3 [3,01–7,8] ($p < 0,01$), 6,5 [5,2–14,1] соответственно, по отношению к группе сравнения, где показатель составил 17,6 [13,7–31,1] ($p < 0,05$). При патологическом фенотипе показатели КС ИЛ-6 исследуемых возрастных групп достоверно не отличались от группы сравнения. Для успешного фенотипа в старческом возрасте выявлено повышение КС ИЛ-10 до 6,9 [3,8–13,8] по отношению к уровню группы патологического фенотипа — 3,3 [2,0–5,9] ($p < 0,01$) и группы сравнения — 2,0 [1,9–2,2] ($p < 0,001$). В группе долгожителей при патологическом фенотипе значительно повышался КС ИЛ-10 (11,2 [5,4–18,1] против 2,7 [2,3–6,5] $p < 0,001$) в группе успешного старения, что может свидетельствовать о выраженном компенсаторном противовоспалительном резерве, являющемся фактором выживания и долголетия при наличии большого количества возраст-ассоциированных заболеваний в данной группе.

Ключевые слова: воспалительное старение, цитокины, культура клеток, фенотип старения, маркеры старения

Финансирование: исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 23-15-00137, <https://rscf.ru/project/23-15-00137>.

Благодарности: директору РГНКЦ ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России О. Н. Ткачевой за предоставленные образцы биоматериалов группы долгожителей; руководству ГБУЗ «ДКЦ № 1 ДЗМ», ГБУ Социальный дом «Обручевский» Филиал «Геронтологический центр «Тропарево» за предоставленные образцы биоматериалов пациентов старших возрастных групп.

Вклад авторов: Л. В. Ганковская — руководство исследованием и планирование работы; В. В. Греченко, Т. В. Громова, А. Д. Огурцова, Э. Р. Журавлева — сбор, обработка и анализ материала; В. В. Греченко — статистическая обработка, Т. Г. Мурадян — подбор клинических групп; В. В. Греченко, Т. В. Громова, Л. В. Ганковская — написание текста; А. Д. Огурцова — редактирование.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России (протокол № 214 от 13 декабря 2021 г.). От участников исследования получено добровольное информированное согласие и согласие на обработку данных.

✉ **Для корреспонденции:** Татьяна Вячеславовна Громова
ул. Островитянова, д. 1, стр. 9, г. Москва, 117997; tvlevashova@gmail.com

Статья получена: 03.08.2025 **Статья принята к печати:** 20.08.2025 **Опубликована онлайн:** 30.08.2025

DOI: 10.24075/vrgmu.2025.041

Авторские права: © 2025 принадлежат авторам. **Лицензиат:** РНИМУ им. Н. И. Пирогова. Статья размещена в открытом доступе и распространяется на условиях лицензии Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

DETERMINATION OF AGING PHENOTYPE BASED ON THE CHANGES IN SPONTANEOUS AND INDUCED INTERLEUKIN-6 AND INTERLEUKIN-10 PRODUCTION *IN VITRO*Grechenko VV, Gromova TV [✉], Ogurtsova AD, Muradyan TG, Zhuravleva ER, Gankovskaya LV

Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

During the aging the immune system alterations are accompanied by developing the systemic, sterile inflammation: inflammaging. Successful and pathological aging phenotypes are distinguished. Inflammaging severity depends largely on the ratio of pro- and anti-inflammatory mediators, especially IL6 and IL10. The study aimed to conduct the analysis of IL6 and IL10 production in the cultures of the patients' peripheral blood mononuclear cells (MNCs) as a possible approach to determining the aging phenotype. The data of elderly patients ($n = 80$), senile patients ($n = 100$), and centenarians ($n = 30$) were included in the study. Among those the groups were allocated with the successful and pathological phenotypes, along with the comparison group (young adults). The stimulation coefficient (SC) was assessed based on the ratio of the levels of stimulated and induced cytokine production. For the successful phenotype in elderly and senile individuals, as well as centenarians, a decrease in the IL6 SC to 5.3 [2.2–14.3] ($p < 0.01$), 5.3 [3.01–7.8] ($p < 0.01$), 6.5 [5.2–14.1], respectively, was reported, against the comparison group, where the value was 17.6 [13.7–31.1] ($p < 0.05$). With the pathological phenotype, the IL6 SC values of the studied age group showed no significant differences from that of the comparison group. For the successful phenotype in senile individuals, the increase in the IL10 SC to 6.9 [3.8–13.8] relative to the values of the group with the pathological phenotype — 3.3 [2.0–5.9] ($p < 0.01$) and the comparison group — 2.0 [1.9–2.2] ($p < 0.001$) was reported. In the group of centenarians with the pathological phenotype, there was a significant increase in the IL10 SC (11.2 [5.4–18.1] vs 2.7 [2.3–6.5] $p < 0.001$) in the group with successful aging, which can indicate the pronounced compensatory anti-inflammatory reserve being a factor of survival and long life in the context of the presence of a large number of age-related disorders in this group.

Keywords: inflammaging, cytokines, cell culture, aging phenotype, markers of aging

Funding: the study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 23-15-00137, <https://rscf.ru/project/23-15-00137>.

Acknowledgements: to O.N. Tkacheva, Head of the Russian Gerontological Research and Clinical Center, Pirogov Russian National Research Medical University, for the provided biomaterial samples of the group of centenarians; executives of the Diagnostic Clinical Center No. 1, Obruchevsky Social House, branch of the Troparyovo Geriatric Center, for the provided biomaterial samples of patients of older age groups.

Author contribution: Gankovskaya LV — research management and study planning; Grechenko VV, Gromova TV, Ogurtsova AD, Zhuravleva ER — data acquisition, processing, and analysis; Grechenko VV — statistical processing, Muradyan TG — selection of clinical groups; Grechenko VV, Gromova TV, Gankovskaya LV — manuscript writing; Ogurtsova AD — editing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Pirogov Russian National Research Medical University (protocol No. 214 dated 13 December 2021). The subjects submitted the informed consent to participation in the study and the consent to data processing.

✉ **Correspondence should be addressed:** Tatiana V. Gromova
Ostrovityanova, 1, stroenie 9, Moscow, 117997; tvlevashova@gmail.com

Received: 03.08.2025 **Accepted:** 20.08.2025 **Published online:** 30.08.2025

DOI: 10.24075/brsmu.2025.041

Copyright: © 2025 by the authors. **Licensee:** Pirogov University. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Увеличение продолжительности жизни и существенный рост доли пожилых людей в структуре населения вызывают большой интерес к изучению механизмов старения. Старение затрагивает все системы организма, в том числе иммунную, которая вносит большой вклад в формирование траекторий старения. Одной из ключевых теорий старения в настоящее время является теория «inflammaging» (в переводе с англ. воспалительное старение) [1]. Согласно этой теории, в процессе старения формируется хроническое стерильное слабовыраженное воспаление, которое может способствовать развитию возраст-ассоциированных заболеваний. Причиной развития такого воспаления могут являться различные факторы, такие как окислительный стресс, нарушение аутофагии, появление сенесцентных клеток, изменение состава микробиоты, активация инфламмасом и др. [2]. Все указанные факторы ведут к увеличению DAMP (от англ. damage-associated molecular patterns — молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением) и PAMP (от англ. pathogen-associated molecular patterns), и как следствие, к увеличению выработки провоспалительных цитокинов, хемокинов. В зависимости от выраженности воспаления выделяют два фенотипа старения — успешное и патологическое. Успешное старение связано с достижением оптимального уровня физической, когнитивной и психо-социальной адаптации в пожилом возрасте. Патологическое, напротив, сопряжено с ускорением темпов старения, развитием возраст-ассоциированных заболеваний, приводящих к инвалидизации и снижению качества жизни [3]. В связи с этим поиск подходов, определяющих фенотип старения, представляет актуальную задачу.

В литературе имеются многочисленные данные об изменении системы цитокинов при старении [4, 5]. Однако на сегодняшний день практически отсутствуют работы, рассматривающие изменения продукции про- и противовоспалительных цитокинов в широком возрастном диапазоне в аспекте успешного и патологического фенотипов старения. Было показано, что патологический фенотип старения у лиц старческого возраста характеризуется повышением концентрации провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ФНО, ИЛ-18) в сыворотке крови, в то время как противовоспалительные цитокины, такие как ИЛ-10 и ТФР, напротив, снижаются по сравнению с лицами молодого возраста [6]. Однако системные уровни цитокинов не дают ответа на вопрос, как будут отвечать клетки иммунной системы на инфекционные стимулы или повреждение, что может быть важным в контексте оценки прогноза при инфекционной патологии, например при COVID-19, или течения возраст-ассоциированной патологии. Кроме того, уровни наиболее показательных цитокинов, таких как ИЛ-6 и ИЛ-10 в периферической крови людей без клинических проявлений системного воспаления остаются низкими, буквально на нижних границах чувствительности современных диагностических тест-систем, что делает достаточно спорной оценку этих показателей в клинике

в качестве диагностических и прогностических маркеров воспалительного старения. В связи с этим анализ спонтанной и индуцированной продукции цитокинов мононуклеарными клетками (МНК) в культуре *in vitro* представляется более информативным в определении фенотипа старения.

Цель работы — анализ спонтанной и индуцированной бактериальным липополисахаридом (ЛПС) продукции ИЛ-6 и ИЛ-10 в культурах МНК периферической крови пациентов старших возрастных групп при различных фенотипах старения.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены:

- 80 человек пожилого возраста (средний возраст $68,7 \pm 4,3$ лет, из них 53 женщины, 27 мужчин);
- 100 пациентов старческого возраста (средний возраст $81,8 \pm 5,3$ года, из них 72 женщины, 28 мужчин);
- 30 долгожителей (средний возраст $92,7 \pm 1,7$ года, из них 21 женщина, 9 мужчин).

Все пациенты проходили обследование в ГБУ Геронтологический центр, ГБУЗ г. Москвы «ДКЦ № 1 ДЗМ» г. Москвы.

Критерии исключения: наличие острых заболеваний и обострение хронических заболеваний на момент участия. Критерии включения: возраст обследуемых в соответствии с изучаемой группой; наличие подписанного информированного согласия на участие в исследовании.

Для оценки фенотипа старения проводили комплексную гериатрическую оценку (КГО), включающую оценку соматического статуса (индекс коморбидности Чальсона, CCI), физического состояния (краткая батарея тестов физического функционирования, SSPB) и когнитивных функций (шкала ментального состояния, MMSE). Критерии разделения на подгруппы успешного и патологического старения представлены в таблице.

В группу сравнения включены 25 человек молодого возраста (средний возраст $22,4 \pm 2,8$ года), из которых 16 женщин и 9 мужчин. Все включенные в исследование молодые лица не имели острых и хронических заболеваний на момент участия, не имели ограничений физического функционирования и когнитивных нарушений. Критерии включения: молодой возраст обследуемых; наличие подписанного информированного согласия на участие в исследовании. Критерии исключения: наличие острых и хронических заболеваний.

В качестве биологического материала для исследования использовали образцы периферической крови.

Выделение МНК для культивирования осуществляли из периферической крови на градиенте плотности фиколюрографина ($\rho = 1,077 \text{ г/см}^3$) [8]. Выделенные клетки культивировали в течение 24 ч в среде RPMI-1640 (Capricorn сор., CША) с добавлением 20% эмбриональной телячьей сыворотки (Panexin, GMBH, Германия) при температуре

Таблица. Критерии разделения исследуемых групп на подгруппы успешного и патологического старения

Критерии	Пожилый возраст		Старческий возраст		Долгожители	
	Успешное старение	Патологическое старение	Успешное старение	Патологическое старение	Успешное старение	Патологическое старение
CCI	2–3	4+	4–6	7+	4–8	9+
SSPB	11–12	1–10	9–12	0–8	8+	0–5
MMSE	28–30	менее 28	28–30	менее 28	24–30	менее 24*

Примечание: * — по данным [7].

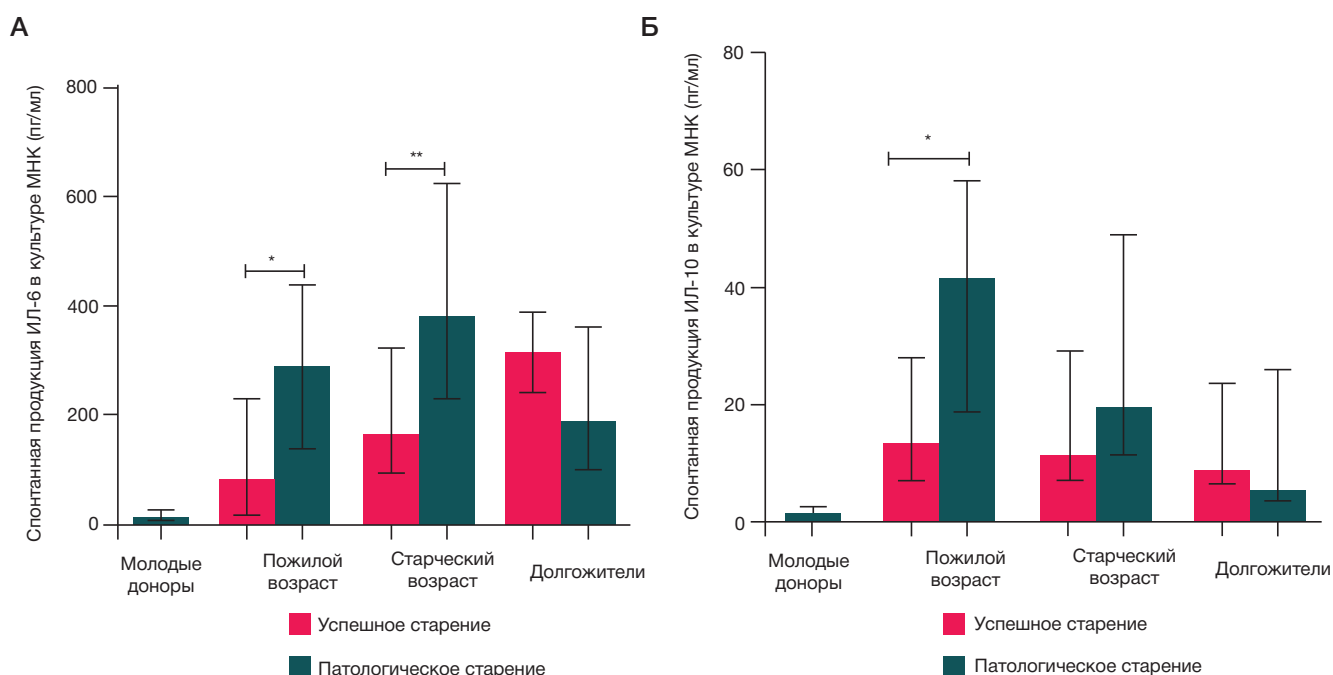


Рис. 1. Спонтанная продукция ИЛ-6 (**А**) и ИЛ-10 (**Б**) в культуре МНК периферической крови лиц пожилого, старческого возраста и долгожителей при различных фенотипах старения. Данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильных размахов (Interquartile range), статистически значимые различия между фенотипами старения внутри исследуемых возрастных групп: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$

37 °C и 5% CO₂. Концентрация клеток при культивировании была 1×10^6 кл/мл. Для оценки стимулированной продукции цитокинов к клеткам добавляли бактериальный ЛПС (Servicebio, Китай) в рабочей концентрации 0,1 мкг/мл. Спонтанную продукцию цитокинов оценивали в культуре клеток без добавления ЛПС или других стимуляторов.

Концентрацию цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-10 определяли в супернатантах клеточных культур методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческих тест-систем («Вектор-Бест», Россия).

Статистическую обработку данных проводили с использованием программного обеспечения Microsoft Excel (Microsoft Inc., США) и GraphPad Prism 4.0 (GraphPad Software Inc., США). Для оценки статистических различий между исследуемыми группами применяли критерий Kruskal–Wallis Test с апостериорным (post-hoc) критерием Данна для множественных сравнений (Dunn's Multiple Comparison Test). Различия между группами считали значимыми при p -значении менее 0,05 (уровень значимости $\alpha = 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Полученные нами результаты показывают значимо повышенную базальную продукцию как ИЛ-6, так и ИЛ-10 во всех исследуемых группах, по отношению к группе сравнения молодого возраста, где уровни этих цитокинов составляли 12,5 [7,7–23,2] пг/мл и 1,4 [0,8–2,2] пг/мл соответственно (рис. 1). При этом для пожилого и старческого возрастов в подгруппах с патологическим фенотипом старения характерно также повышение ИЛ-6 по сравнению с успешным фенотипом (рис. 1А). Так, в пожилом возрасте для патологического фенотипа уровень спонтанной продукции ИЛ-6 достигал 289 [138–437] пг/мл, в то время как для успешного фенотипа — 84,8 [19,4–232] пг/мл, а в старческом возрасте он составил 377 [225–624] пг/мл — для патологического фенотипа и 163 [97,3–319] пг/мл — для успешного фенотипа соответственно. Для группы

долгожителей достоверных различий между фенотипами не выявлено. В то же время для патологического фенотипа в группе пожилого возраста характерно повышение и противовоспалительного цитокина ИЛ-10 до 41,1 [18,5–58,1] пг/мл по сравнению с успешным фенотипом (13,2 [7,3–27,9] пг/мл). В группе старческого возраста отмечена лишь тенденция к его повышению (рис. 1Б).

Помимо изучения спонтанной продукции цитокинов МНК периферической крови проводили стимуляцию клеток бактериальным ЛПС. Такой подход может быть рассмотрен как способ оценки потенциальной про- и противовоспалительной активности клеток врожденного иммунитета.

Стимулированная продукция ИЛ-6 увеличивается во всех группах и имеет тот же общий характер изменений, что и спонтанная продукция (рис. 2А).

Однако результаты измерения ИЛ-10 были более интересны (рис. 2Б). Так, в подгруппе успешного старения пациентов старческого возраста выявлены значимо ($p < 0,05$) более высокие уровни — 117,3 [61,3–318,2] пг/мл — по сравнению с подгруппой патологического фенотипа, где значения составили 57,4 [10,8–172,3] пг/мл. У пациентов пожилого возраста и долгожителей с разными фенотипами старения достоверных различий в продукции ИЛ-10 не выявлено.

Для лучшей интерпретации этих данных в качестве интегрального показателя спонтанной и стимулированной выработки цитокинов использовали коэффициент стимуляции (КС), представляющий собой соотношение стимулированной продукции цитокина к его спонтанной продукции МНК периферической крови. Данный коэффициент может быть рассмотрен как показатель готовности клеток к выработке про- и противовоспалительных цитокинов в ответ на PAMP и DAMP [9]. Увеличение КС для того или иного цитокина может свидетельствовать о повышенной готовности к его выработке, в то время как снижение — о снижении такой готовности.

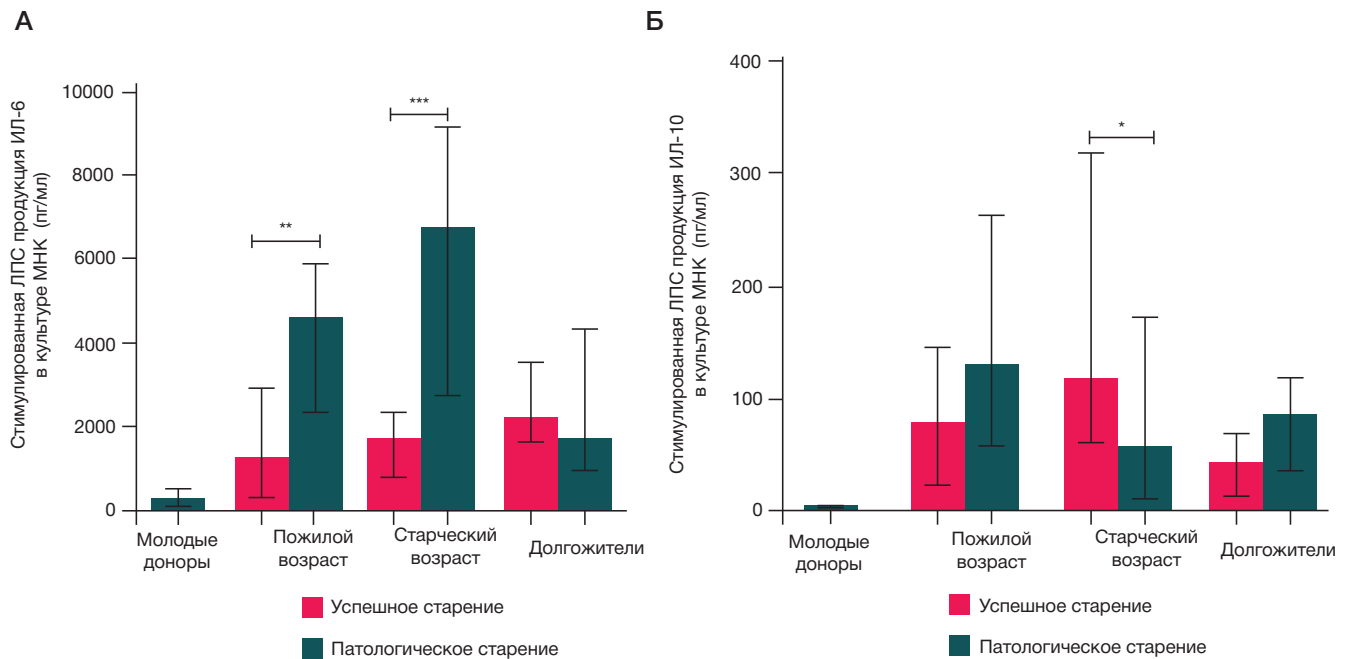


Рис. 2. ЛПС-индуцированная продукция ИЛ-6 (А) и ИЛ-10 (Б) в культуре МНК периферической крови лиц пожилого, старческого возраста и долгожителей при различных фенотипах старения. Данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильных размахов (Interquartile range), статистически значимые различия между фенотипами старения внутри исследуемых возрастных групп: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$

КС для ИЛ-6 (КСИЛ-6) максимален в группе сравнения — 17,6 [13,7–31,1] (рис. 3А), что говорит о высокой реактивности клеток в молодом возрасте. При этом успешный фенотип старения демонстрирует значимое снижение КСИЛ-6 с возрастом, что отражает адаптационный характер иммуностарения. У людей пожилого возраста значения КСИЛ-6 составляли 5,3 [2,2–14,3], у людей старческого возраста — 5,3 [3,01–7,8], для долгожителей — 6,5 [5,2–14,1]. Хотя при патологическом фенотипе в пожилом и старческом возрасте КСИЛ-6 имеет тенденцию к снижению, достоверно он не отличается от такового у молодых лиц и остается значимо повышенным по сравнению с таким показателем при успешном фенотипе. Долгожители являются особой группой, где наличие возраст-ассоциированной патологии не помешало большой продолжительности жизни, и у них отмечали преимущественно сниженный КСИЛ-6 как для успешного, так и для патологического фенотипов старения. КС для ИЛ-10 (КСИЛ-10) демонстрируют противоположные изменения (рис. 3Б). С возрастом отмечается рост этого показателя, по сравнению с группой молодых лиц, где он составлял 2,0 [1,9–2,2]. Однако в пожилом возрасте значимых различий как по сравнению с молодыми людьми, так и между фенотипами старения не наблюдается. Учитывая повышенную готовность к продукции клетками ИЛ-6 при патологическом старении в этом возрасте, это можно интерпретировать как нарушение баланса про- и противовоспалительных сигналов, что является признаком развивающегося воспалительного старения [10]. В старческом возрасте данный дисбаланс проявляется еще больше: для ИЛ-6 и ИЛ-10 отмечены разнонаправленные изменения КС в подгруппах успешного и патологического старения. В подгруппе успешного старения повышен КСИЛ-10 до 6,9 [3,8–13,8] по сравнению с 3,3 [2,0–5,9], выявленным при патологическом фенотипе старения. В группе патологического старения повышенным оказывается КСИЛ-6 — 13,2 [7,4–25,3] против 5,3 [3,01–7,8] в подгруппе успешного старения. В группе долгожителей КСИЛ-10 значимо повышается в подгруппе патологического

старения и составляет 11,2 [5,4–18,1], в то время как при успешном старении показатель был на уровне 2,7 [2,3–6,5] и достоверно не отличался от такового в группе сравнения.

Ограничение исследования

В настоящем исследовании не учитывалось влияние пола на полученные результаты, а также влияние наличия отдельных возраст-ассоциированных заболеваний у пациентов исследуемых групп.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Многочисленные исследования системных уровней цитокинов показывают, что повышенные концентрации провоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-1b, ФНО, ИЛ-18 и ИЛ-6, в крови ассоциированы с гериатрическими синдромами, такими как старческая астения, саркопения и др. [11], а также более тяжелым течением возраст-ассоциированной патологии и, в ряде случаев, риском смерти [12]. При этом существующие данные по противовоспалительным цитокинам менее информативны. Относительно ИЛ-10 известно, что его повышение не ассоциировано с наличием заболеваний и гериатрических синдромов [13].

Согласно исследованиям, для долгожителей характерно повышение системного уровня противовоспалительных цитокинов ИЛ-10 [14] и ТФР-β [15] (по сравнению с людьми старческого возраста), наши предыдущие результаты тоже соответствуют этим данным [2]. Однако для пожилой и старческой возрастных групп такие данные мало применимы, поскольку уровни противовоспалительных цитокинов оказываются низкими и не показывают связи с возраст-ассоциированной патологией.

Для процесса воспалительного старения характерно медленное повышение уровней провоспалительных цитокинов, протекающее бессимптомно и обозначаемое как низкоуровневое воспаление. В то же время развитие инфекционных заболеваний или обострение

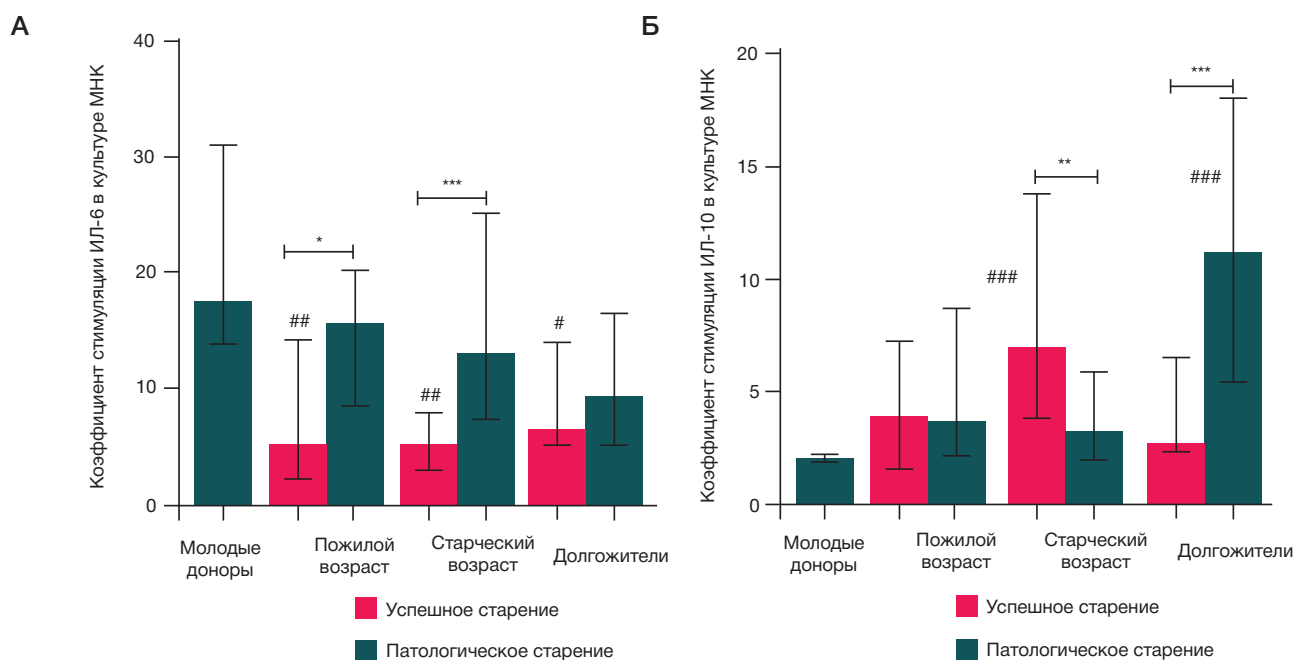


Рис. 3. Коэффициенты стимуляции продукции ИЛ-6 (**А**) и ИЛ-10 (**Б**) в культуре МНК периферической крови лиц пожилого, старческого возраста и долгожителей при различных фенотипах старения. Данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильных размахов (Interquartile range), статистически значимые различия между фенотипами старения: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$; статистически значимые различия по отношению к группе сравнения (молодые доноры): # — $p < 0,05$; ## — $p < 0,01$; ### — $p < 0,001$

хронической неинфекционной патологии приводит к выходу воспалительной реакции на клинически значимый уровень, однако оценку реактивности иммунной системы в таких ситуациях, как правило, не проводят. Исследование продукции ИЛ-10 и ИЛ-6 *in vitro* может рассматриваться в качестве оценки такой реактивности.

Повышение спонтанной продукции ИЛ-6 и ИЛ-10 в культурах МНК *in vitro* у лиц старших возрастных групп по сравнению с молодыми донорами можно интерпретировать как наличие предстимуляции клеток на уровне организма за счет увеличения циркулирующих молекулярных паттернов PAMP и DAMP [16]. Это соотносится с существующими литературными данными. В частности показано, что с возрастом увеличивается как базальная, так и стимулированная продукция ФНО клетками периферической крови [17]. Такая предстимуляция в большей степени выражена при патологическом фенотипе старения в пожилом и старческом возрасте. В группе пожилого возраста обращает на себя внимание также значимое повышение ИЛ-10, что может рассматриваться как компенсаторная реакция, тормозящая провоспалительную активность. В группе долгожителей с разными фенотипами не выявлено достоверных различий в спонтанной выработке цитокинов.

Стимуляция клеток ЛПС во всех возрастных группах приводит к увеличению выработки как ИЛ-6, так и ИЛ-10, превышая уровень цитокинов при тех же условиях у молодых лиц. Однако для патологического фенотипа старения уже в пожилом возрасте характерны более высокие уровни ИЛ-6, по сравнению с успешным фенотипом, что свидетельствует о начале проявлений inflammaging и установлении неблагоприятной траектории процесса старения [18]. В старческом возрасте при патологическом фенотипе эти проявления дополняются сниженной стимулированной продукцией ИЛ-10, по сравнению с успешным фенотипом старения.

Анализ КС как интегрального показателя, отражающего реактивность клеток при выработке цитокинов, показывает,

что при успешном фенотипе старения для всех старших возрастных групп, включая долгожителей, происходит снижение КСИЛ-6 по сравнению с молодыми лицами. Это может рассматриваться как благоприятный адаптивный процесс, сопровождающий старение, показывающий, что несмотря на общее повышение базальной продукции ИЛ-6, готовность к дальнейшей провоспалительной активности ограничивается, что тормозит воспалительное старение. В то время как отсутствие или недостаточное снижение реактивности в отношении выработки ИЛ-6 с возрастом говорит о неблагоприятном течении процесса старения. При этом КСИЛ-10, отражающий готовность к продукции ИЛ-10, напротив, имеет тенденцию к повышению с возрастом. Хотя для пожилого возраста не продемонстрировано значимых различий КСИЛ-10 ни между фенотипами старения, ни по сравнению с молодыми людьми, уже в старческом возрасте его повышение говорит об успешном фенотипе старения.

Уже отмечалось, что долгожители являются особой группой, и здесь мы видим значительное повышение КСИЛ-10 именно в подгруппе патологического старения, что может играть роль противовеса процессов воспалительного старения в данной группе, являясь одним из возможных факторов, обуславливающих длительный срок жизни таких людей [4]. Таким образом, можно сказать, что успешная траектория старения выглядит как снижение готовности к продукции ИЛ-6 и повышение готовности к продукции ИЛ-10. Сходные данные получены на моделях линии долгоживущих крыс, у которых показано повышение базальной и стимулированной экспрессии ИЛ-10 перитонеальными макрофагами, в то время как аналогичные уровни ИЛ-6 и других провоспалительных цитокинов ниже, чем у старых животных контрольных линий [19].

Старческий возраст, вероятно, является критическим периодом, когда наметившийся в пожилом возрасте дисбаланс про- и противовоспалительных факторов приводит к выраженным проявлениям провоспалительного

фенотипа старения [20, 21], таким как быстрое развитие многочисленной возраст-ассоциированной патологии и проявления старения со стороны как физического состояния, так и когнитивных функций.

Несмотря на то что повышение противовоспалительной активности, в частности связанной с ИЛ-10, может быть фактором риска возникновения как инфекционных заболеваний, так и онкологической патологии, оно носит позитивный характер, являясь ингибитором процессов воспалительного старения. Таким образом про- и противовоспалительные цитокины демонстрируют двойственную природу, выступая как защитными, так и патогенетическими факторами. Воспаление — ключевой компонент иммунных реакций в ответ на патогены, однако его избыточность может приводить к многочисленным неинфекционным заболеваниям и повышать их летальность. Эволюционно иммунная система оптимизирована для борьбы с инфекциями в молодом возрасте, когда провоспалительные реакции критически важны для выживания. Однако в более поздние возрастные периоды чрезмерное воспаление становится фактором риска развития возраст-ассоциированных заболеваний, тогда как ограничение воспаления с участием системы противовоспалительных цитокинов может способствовать долголетию.

ВЫВОДЫ

Процесс старения сопровождается различными изменениями в организме, включая изменения в иммунной системе. Старение иммунной системы и воспалительное старение — это два связанных процесса, неизбежно присутствующие в организме с возрастом. Находясь в зависимости от внешних факторов окружающей среды и генетической предрасположенности, они формируют

течение старости. Если организм в ходе старения и связанных с ним изменений в системе врожденного иммунитета продолжает адекватно отвечать на внешние и внутренние сигналы опасности (PAMP и DAMP), то можно говорить об успешном типе старения, которое в свою очередь сопровождается преобладанием противовоспалительного статуса, что компенсирует избыточно усиленную воспалительную активность. В случае, когда порог адекватного реагирования преодолен, и организм отвечает избыточной выработкой провоспалительных медиаторов, не компенсируя это противовоспалительными компонентами, развивается патологический тип старения. Разработан подход оценки фенотипа старения, основанный на определении коэффициента стимуляции, представляющего собой соотношение стимулированной продукции цитокинов МНК периферической крови к спонтанной продукции. Данный коэффициент можно рассматривать как показатель развития inflammaging. Снижение КС ИЛ-6 и в то же время повышение КС ИЛ-10 было отмечено у лиц пожилого и старческого возраста при успешном фенотипе старения. В группе долгожителей при патологическом фенотипе старения отмечено значительное повышение КС ИЛ-10, что может свидетельствовать о выраженном компенсаторном противовоспалительном резерве, являющемся фактором выживания и долголетия при наличии полиморбидности.

Функциональная оценка про-/противовоспалительной активности клеток врожденного иммунитета может стать основой для индивидуального подхода к профилактике возрастной патологии, направленного на поддержание адекватных условий внешней и внутренней среды, продуманного подавления воспаления, включая медикаментозное, формирует возможность активного долголетия.

Литература

1. Franceschi C, Bonafe M, Valensin S, Olivieri F, De Luca M, Ottaviani E, et al. Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann NY Acad Sci*. 2000; 908: 208–18. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb06651.x>.
2. Ганковская Л. В., Артемьева О. В., Намазова-Баранова Л. С. и др. Иммунологические аспекты старения и возраст-ассоциированная патология. М.: ПедиатрЪ, 2021; 156 с.
3. Franceschi C, Capri M, Monti D, et al. Inflammaging and anti-inflammaging: a systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. *Mechanisms of Ageing and Development*. 2007; 128: 92–105. DOI: 10.1016/j.mad.2006.11.016.
4. Minciullo PL, Catalano A, Mandraffino G, Casciaro M, Crucitti A, Maltese G, et al. Inflammaging and Anti-Inflammaging: The Role of Cytokines in Extreme Longevity. *Arch Immunol Ther Exp*. 2016; 64: 111–26. DOI: 10.1007/s00005-015-0377-3.
5. Puzianowska-Kuznicka M, Owczarż M, Wieczorowska-Tobis K, Nadrowski P, Chudek J, et al. Interleukin-6 and C-reactive protein, successful aging, and mortality: the PolSenior study. *Immun Ageing*. 2016; 13: no.21. DOI: 10.1186/s12979-016-0076-x.
6. Греченко В. В., Артемьева О. В., Громова Т. В., Ганковская Л. В. Изменение уровней про- и противовоспалительных цитокинов у лиц старческого возраста и долгожителей при различных фенотипах старения. *Иммунология*. 2024; 45 (5): 594–603. Available from: <https://doi.org/10.33029/1816-2134-2024-45-5-594-603>.
7. Hayashida DY, Jacinto AF, Araújo LMQ, Almada Filho CMDI, Tommaso AB, Cendoroglo MS. Association between baseline Mini-Mental State Examination score and dementia incidence in a cohort of oldest old. *Arq Neuropsiquiatr*. 2021; 79 (12): 1090–4. DOI: 10.1590/0004-282X-ANP-2020-0543.
8. Zhu W, Revu S, Chen C, Dahl M, Ramkumar A, Kelly C, et al. Aging-dependent change in Th17 and cytokine response in multiple sclerosis. *J Neuroinflammation*. 2025; 22 (1): 150. DOI: 10.1186/s12974-025-03474-8. PMID: 40474243; PMCID: PMC12142853.
9. Bogatyreva AI, Gerasimova EV, Kirichenko TV, Markina YV, Popkova TV, Shalygina MV, et al. Proinflammatory Activation of Monocytes in Patients with Immunoinflammatory Rheumatic Diseases. *Dokl Biochem Biophys*. 2024; 517 (1): 228–34. DOI: 10.1134/S1607672924700959. Epub 2024 Jul 13. PMID: 39002011.
10. Franceschi C, Salvioli S, Garagnani P, de Eguileor M, Monti D, Capri M. Immunobiography and the heterogeneity of immune responses in the elderly: a focus on inflammaging and trained immunity. *Front in Immunology*. 2017; 8: 982. Available from: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00982>.
11. Pinti M, et al. A Comprehensive Analysis of Cytokine Network in Centenarians. *Int J Mol Sci*. 2023; 24 (3): 2719. DOI: 10.3390/ijms24032719.
12. Tyłutka A, Walas L, Zembron-Lacny A. Level of IL-6, TNF, and IL-1b and age-related diseases: a systematic review and meta-analysis. *Front Immunol*. 2024; 15: 1330386. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1330386.
13. Arosio B, Ferri E, Mari D, Tobaldini E, Vitale G, Montano N. The influence of inflammation and frailty in the aging continuum. *Mech Ageing Dev*. 2023; 215:111872. DOI: 10.1016/j.mad.2023.111872.
14. Franceschi C. Inflammaging as a major characteristic of old people: can it be prevented or cured. *Nutr Rev*. 2007; 65 (12 Pt 2): 173–76. DOI: 10.1111/j.1753-4887.2007.tb00358.x.
15. Zhou L, Ge M, Zhang Y, Wu X, Leng M, Gan C, et al. Centenarians Alleviate Inflammaging by Changing the Ratio and Secretory

- Phenotypes of T Helper 17 and Regulatory T Cells. *Front Pharmacol.* 2022; 13: 877709. DOI: 10.3389/fphar.2022.877709.
16. Fulop T, Larbi A, Pawelec G, Khalil A, Cohen AA, Hirokawa K, et al. Immunology of Aging: the Birth of Inflammaging. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology.* 2023; 64: 109–22. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12016-021-08899-6>.
 17. Bailey KL, Smith LM, Heires AJ, Katafiasz DM, Romberger DJ, LeVan TD. Aging leads to dysfunctional innate immune responses to TLR2 and TLR4 agonists. *Aging Clin Exp Res.* 2019; 31 (9): 1185–93. DOI: 10.1007/s40520-018-1064-0).
 18. Olivieri F, Prattichizzo F, Lattanzio F, Bonfigli AR, Spazzafumo L. Antifragility and antiinflammaging: Can they play a role for a healthy longevity? *Ageing Research Reviews.* 2023; 84: 101836. DOI: 101836<https://doi.org/10.1016/j.arr.2022.101836>.
 19. Dimitrijević M, Aleksić I, Vujić V, Stanojević S, Pilipović I, von Hörsten S, et al. Peritoneal exudate cells from long-lived rats exhibit increased IL-10/IL-1 β expression ratio and preserved NO/urea ratio following LPS-stimulation in vitro. *Age (Dordr).* 2014; 36 (4): 9696. DOI: 10.1007/s11357-014-9696-2).
 20. Silva R, Travassos L, Dutra F. The dichotomic role of single cytokines: Fine-tuning immune responses. *Cytokine.* 2024; 156408. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2023.156408>.
 21. Silva R. The dichotomic role of cytokines in aging. *Biogerontology.* 2025; 26: 17. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10522-024-10152-4>.

References

1. Franceschi C, Bonafe M, Valensin S, Olivieri F, De Luca M, Ottaviani E, et al. Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann NY Acad Sci.* 2000; 908: 208–18. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb06651.x>.
2. Gankovskaya LV, Artemyeva OV, Namazova-Baranova LS, et al. Immunologicheskie aspekty starenija i vozrast-associirovannaja patologija. M.: Pediatr, 2021; 156 s. Russian.
3. Franceschi C, Capri M, Monti D, et al. Inflammaging and anti-inflammaging: a systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. *Mechanisms of Ageing and Development.* 2007; 128: 92–105. DOI: 10.1016/j.mad.2006.11.016.
4. Minciullo PL, Catalano A, Mandraffino G, Casciaro M, Crucitti A, Maltese G, et al. Inflammaging and Anti-Inflammaging: The Role of Cytokines in Extreme Longevity. *Arch Immunol Ther Exp.* 2016; 64: 111–26. DOI: 10.1007/s00005-015-0377-3.
5. Puzianowska-Kuznicka M, Owczarż M, Wieczorowska-Tobis K, Nadrowski P, Chudek J, et al. Interleukin-6 and C-reactive protein, successful aging, and mortality: the PolSenior study. *Immun Aging.* 2016; 13: no.21. DOI: 10.1186/s12979-016-0076-x.
6. Grechenko VV, Artemyeva OV, Gromova TV, Gankovskaya LV. Izmenešenie urovnej pro- i protivovospalitel'nyh citokinov u lic starčeskogo vozrasta i dolgožitelej pri razlichnyh fenotipah starenija. *Immunologija.* 2024; 45 (5): 594–603. Available from: <https://doi.org/10.33029/1816-2134-2024-45-5-594-603>. Russian. Available from: <https://doi.org/10.33029/1816-2134-2024-45-5-594-603>.
7. Hayashida DY, Jacinto AF, Araújo LM, Almada Filho CMDI, Tommaso AB, Cendoroglo MS. Association between baseline Mini-Mental State Examination score and dementia incidence in a cohort of oldest old. *Arq Neuropsiquiatr.* 2021; 79 (12): 1090–4. DOI: 10.1590/0004-282X-ANP-2020-0543.
8. Zhu W, Revu S, Chen C, Dahl M, Ramkumar A, Kelly C, et al. Aging-dependent change in Th17 and cytokine response in multiple sclerosis. *J Neuroinflammation.* 2025; 22 (1): 150. DOI: 10.1186/s12974-025-03474-8. PMID: 40474243; PMCID: PMC12142853.
9. Bogatyreva AI, Gerasimova EV, Kirichenko TV, Markina YV, Popkova TV, Shalygina MV, et al. Proinflammatory Activation of Monocytes in Patients with Immunoinflammatory Rheumatic Diseases. *Dokl Biochem Biophys.* 2024; 517 (1): 228–34. DOI: 10.1134/S1607672924700959. Epub 2024 Jul 13. PMID: 39002011.
10. Franceschi C, Salvioli S, Garagnani P, de Equileor M, Monti D, Capri M. Immunobiography and the heterogeneity of immune responses in the elderly: a focus on inflammaging and trained immunity. *Front in Immunology.* 2017; 8: 982. Available from: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00982>.
11. Pinti M, et al. A Comprehensive Analysis of Cytokine Network in Centenarians. *Int J Mol Sci.* 2023; 24 (3): 2719. DOI: 10.3390/ijms24032719.
12. Tyłutka A, Walas L, Zembron-Lacny A. Level of IL-6, TNF, and IL-1 β and age-related diseases: a systematic review and meta-analysis. *Front Immunol.* 2024; 15: 1330386. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1330386.
13. Arosio B, Ferri E, Mari D, Tobaldini E, Vitale G, Montano N. The influence of inflammation and frailty in the aging continuum. *Mech Ageing Dev.* 2023; 215:111872. DOI: 10.1016/j.mad.2023.111872).
14. Franceschi C. Inflammaging as a major characteristic of old people: can it be prevented or cured. *Nutr Rev.* 2007; 65 (12 Pt 2): 173–76. DOI: 10.1111/j.1753-4887.2007.tb00358.x.
15. Zhou L, Ge M, Zhang Y, Wu X, Leng M, Gan C, et al. Centenarians Alleviate Inflammaging by Changing the Ratio and Secretory Phenotypes of T Helper 17 and Regulatory T Cells. *Front Pharmacol.* 2022; 13: 877709. DOI: 10.3389/fphar.2022.877709.
16. Fulop T, Larbi A, Pawelec G, Khalil A, Cohen AA, Hirokawa K, et al. Immunology of Aging: the Birth of Inflammaging. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology.* 2023; 64: 109–22. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12016-021-08899-6>.
17. Bailey KL, Smith LM, Heires AJ, Katafiasz DM, Romberger DJ, LeVan TD. Aging leads to dysfunctional innate immune responses to TLR2 and TLR4 agonists. *Aging Clin Exp Res.* 2019; 31 (9): 1185–93. DOI: 10.1007/s40520-018-1064-0).
18. Olivieri F, Prattichizzo F, Lattanzio F, Bonfigli AR, Spazzafumo L. Antifragility and antiinflammaging: Can they play a role for a healthy longevity? *Ageing Research Reviews.* 2023; 84: 101836. DOI: 101836<https://doi.org/10.1016/j.arr.2022.101836>.
19. Dimitrijević M, Aleksić I, Vujić V, Stanojević S, Pilipović I, von Hörsten S, et al. Peritoneal exudate cells from long-lived rats exhibit increased IL-10/IL-1 β expression ratio and preserved NO/urea ratio following LPS-stimulation in vitro. *Age (Dordr).* 2014; 36 (4): 9696. DOI: 10.1007/s11357-014-9696-2).
20. Silva R, Travassos L, Dutra F. The dichotomic role of single cytokines: Fine-tuning immune responses. *Cytokine.* 2024; 156408. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2023.156408>.
21. Silva R. The dichotomic role of cytokines in aging. *Biogerontology.* 2025; 26: 17. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10522-024-10152-4>.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ФАРМАКОКИНЕТИКА И БИОРАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕПТИДОВ HAEE И HASS

А. В. Иванова[✉], П. А. Лазарева, И. А. Кузьмичев, В. В. Вадехина, А. В. Косых, Н. Г. Гурская, М. А. Абакумов

Научно-исследовательский институт трансляционной медицины, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

В связи с ограниченной доступностью современных методов диагностики болезни Альцгеймера особый интерес представляют малые молекулы и короткие пептиды, способные специфично связываться с β -амилоидом. Целью работы было провести сравнительное изучение фармакокинетики и биораспределения двух модельных пептидов — HAEE (His-Ala-Glu-Glu) и HASS (His-Ala-Ser-Ser) как потенциальных платформ для разработки диагностических систем и установить взаимосвязь между структурой пептидов и их органотропностью. Исследование выполнено на мышах линии BALB/c ($n = 10$) с использованием флуоресцентно меченых соединений. Применяли IVIS-визуализацию *in vivo*, флуоресцентную микроскопию *ex vivo* и фармакокинетический анализ. Результаты выявили принципиальные различия: HAEE с отрицательным зарядом преимущественно накапливался в почках ($T_{1/2\beta} = 4,39$ ч) благодаря реабсорбции в канальцах, тогда как нейтральный HASS быстро захватывался печенью ($T_{1/2\beta} = 2,76$ ч). Полученные данные демонстрируют ключевую роль аминокислотного состава в определении органотропности и открывают перспективы для разработки органоспецифичных пептидных систем.

Ключевые слова: пептид HAEE, пептид HASS, BALB/c здоровые мыши, фармакокинетика HAEE, фармакокинетика HASS, *in vivo* флуоресцентная визуализация (IVIS), гематоэнцефалический барьер, биораспределение HAEE, биораспределение HASS

Финансирование: работы выполнены в рамках Государственного задания «Создание радиофармацевтического лекарственного препарата для диагностики болезни Альцгеймера с использованием тетрапептида HAEE в качестве векторной молекулы», регистрационный номер ЕГИСУ НИОКТР 1024110600012-8-3.2.25;3.2.26;3.2.12.

Вклад авторов: А. В. Иванова — обзор литературы, экспериментальные исследования на мышиной модели BALB/c, проведение транскардиальной перфузии всех органов, подготовка рукописи; П. А. Лазарева — экспериментальные исследования на модели мышей BALB/c, проведение транскардиальной перфузии всех органов, анализ полученных результатов, подготовка рукописи; И. А. Кузьмичев — синтез флуоресцентного пептида HAEEGGGGK-Cy5 и HASSGGGGK-Cy5; В. В. Вадехина — внутривенное введение пептида HAEEGGGGK-Cy5 и HASSGGGGK-Cy5 через хвостовую вену, проведение транскардиальной перфузии всех органов; А. В. Косых — фиксация, подготовка гистологических срезов для съемки на микроскопе, съемка и подготовка рукописи; Н. Г. Гурская — получение изображений на флуоресцентном микроскопе и анализ, подготовка рукописи; М. А. Абакумов — постановка цели, разработка дизайна исследования, подготовка рукописи; все авторы внесли равнозначный вклад в подготовку публикации, подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом РНИМУ им Н. И. Пирогова Минздрава России (номер протокола 03/2025 от 23 января 2025 г.), проведено в соответствии с принципами надлежащей лабораторной практики (Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 708н от 23.08.2010, Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета о защите животных, используемых в научных целях).

✉ Для корреспонденции: Анна Валерьевна Иванова
ул. Островитянова, д. 1, стр. 1, г. Москва, 117513, Россия; super.fosforit@yandex.ru

Статья получена: 10.07.2025 Статья принята к печати: 24.07.2025 Опубликовано онлайн: 31.07.2025

DOI: 10.24075/vrgmu.2025.036

Авторские права: © 2025 принадлежат авторам. Лицензиат: РНИМУ им. Н. И. Пирогова. Статья размещена в открытом доступе и распространяется на условиях лицензии Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

COMPARATIVE PHARMACOKINETICS AND BIODISTRIBUTION OF HAEE AND HASS PEPTIDES

Ivanova AV[✉], Lazareva PA, Kuzmichev IA, Vadekhina VV, Kosykh AV, Gurskaya NG, Abakumov MA

Research Institute of Translational Medicine, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Due to the limited availability of advanced methods to diagnose Alzheimer's disease, small molecules and short peptides capable of specifically binding β -amyloid are of special interest. The study aimed to perform comparative assessment of pharmacokinetics and biodistribution of two model peptides, HAEE (His-Ala-Glu-Glu) and HASS (His-Ala-Ser-Ser), as potential platforms for the development of diagnostic kits, as well as to determine the relationship between the peptide structure and organotropism. The study involving BALB/c mice ($n = 10$) was conducted using the fluorescence labeled compounds. We used *in vivo* IVIS imaging, *ex vivo* fluorescence microscopy, and pharmacokinetic analysis. The results showed fundamental differences: the negatively charged HAEE was accumulated mainly in the kidney ($T_{1/2\beta} = 4.39$ h) due to tubular reabsorption, while neutral HASS was soon captured by the liver ($T_{1/2\beta} = 2.76$ h). The data obtained demonstrate the key role of amino acid composition in determining organotropism and open prospects for the development of organ-specific peptide systems.

Keywords: HAEE peptide, HASS peptide, BALB/c healthy mice, HAEE pharmacokinetics, HASS pharmacokinetics, *in vivo* fluorescence imaging (IVIS), blood brain barrier, HAEE biodistribution, HASS biodistribution

Funding: the study was conducted under the State Assignment "Development of a Radiopharmaceutical for the Diagnosis of Alzheimer's disease Using the HAEE Tetrapeptide as a Vector Molecule", EGISU R&D registration number 1024110600012-8-3.2.25;3.2.26;3.2.12.

Author contribution: Ivanova AV — literature review, BALB/c mouse model experimental research, ensuring transcardiac perfusion of all organs, manuscript writing; Lazareva PA — BALB/c mouse model experimental research, ensuring transcardiac perfusion of all organs, analysis of the results, manuscript writing; Kuzmichev IA — synthesis of HAEEGGGGK-Cy5 and HASSGGGGK-Cy5 fluorescent peptides; Vadekhina VV — intravenous tail vein injection of HAEEGGGGK-Cy5 and HASSGGGGK-Cy5 peptides, ensuring transcardiac perfusion of all organs; Kosykh AV — fixation, histology slide preparation for microscopic imaging, imaging and manuscript writing; Gurskaya NG — imaging using the fluorescence microscope and analysis, manuscript writing; Abakumov MA — goal setting, developing the study design, manuscript writing; all the authors contributed to preparation of the paper equally, they confirmed compliance of their authorship with the international ICMJE criteria.

Compliance with ethical standards: the study approved by the Ethics Committee of the Pirogov Russian National Research Medical University (protocol 03/2025 dated 23 January 2025) was conducted in accordance with the principles of Good Laboratory Practice (Order of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 708n dated 23.08.2010, Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes).

✉ Correspondence should be addressed: Anna V. Ivanova
Ostrovityanova, 1, stroenie 1, Moscow, 117513, Russia; super.fosforit@yandex.ru

Received: 10.07.2025 Accepted: 24.07.2025 Published online: 31.07.2025

DOI: 10.24075/brsmu.2025.036

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee: Pirogov University. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Болезнь Альцгеймера остается одним из наиболее социально значимых нейродегенеративных заболеваний и является основной причиной возникновения деменции у пожилых людей [1, 2]. Ее распространенность экспоненциально растет с возрастом: 53 новых случаев на 1000 человек в возрасте 65–74 лет; 170 новых случаев на 1000 человек в возрасте 75–84 лет и 230 новых случаев на 1000 человек в возрасте старше 85 лет [3, 4]. Патогенез заболевания сложен и многокомпонентен, однако достаточно часто этот процесс сопровождается накоплением β -амилоида ($A\beta$) в виде сенильных бляшек в коре головного мозга [5]. $A\beta$ представляет собой пептид, который имеет длину 39–43 аминокислотных остатков и образуется из белка-предшественника $A\beta$ (APP) [6] — этот уникальный процесс расщепления APP обеспечивает важные мишени для лечения болезни Альцгеймера [7]. Два основных пептида имеют длину 40 ($A\beta_{40}$) и 42 ($A\beta_{42}$) аминокислотных остатка. $A\beta_{42}$ проявляет склонность к агрегации *in vivo* и часто считается более токсичным [8, 9]. Накопление $A\beta_{42}$ приводит к каскаду патологических нарушений, включающих образование олигомеров и фибрилл, активацию нейровоспаления, нарушение синаптической передачи, гибель нейронов [6, 10, 11]. Детальное изучение амилоидной и других патогенетических гипотез, к сожалению, не привело к созданию по-настоящему действенных терапевтических стратегий, развитие которых продолжается с момента первого описания заболевания в 1906 г. [12]. Современные методы диагностики болезни Альцгеймера остаются труднодоступными для широкого применения ввиду технической сложности и значительных финансовых затрат. В этой связи особый интерес представляют малые молекулы, способные специфично связываться с $A\beta$, а их многофункциональность и возможность химической модификации открывают перспективы для разработки более доступных диагностических платформ. Среди таких молекул наиболее перспективными оказались короткие пептидные последовательности — в частности, тетрапептиды HАЕЕ (His-Ala-Glu-Glu) и HASS (His-Ala-Ser-Ser), которые сочетают высокую аффинность к β -амилоиду, ингибирование его агрегации, хорошие фармакокинетические свойства и способность преодолевать гематоэнцефалический барьер [13]. Для реализации их диагностического потенциала необходимо детальное изучение фармакокинетических свойств, включая их биораспределение, способность преодолевать гематоэнцефалический барьер и динамику выведения из организма. Настоящее исследование направлено на комплексную характеристику этих параметров с использованием флуоресцентно-меченых аналогов HАЕЕ и HASS в моделях на животных.

Его цель — определить фармакокинетические параметры тетрапептидов HАЕЕ и HASS у здоровых животных, включая период полувыведения ($T_{1/2}$), для оценки их биораспределения, стабильности *in vivo* и перспектив дальнейшего применения в качестве основы для радиофармпрепаратов или терапевтических средств.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Все экспериментальные работы проводили в исследовательской лаборатории отдела медицинских нанобиотехнологий, а также в отделе регенеративной медицины научно-исследовательского института трансляционной медицины РНИМУ им. Н. И. Пирогова.

IVIS-визуализация *in vivo/ex vivo*

Самки мышей породы BALB/c возрастом 3 месяца, весом 20–25 г были приобретены в питомнике научного центра биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России филиала «Столбовая» (Московская область, Россия).

Мыши имели свободный доступ к пище и воде. Животные получали комбикорм полнорационный экструдированный для лабораторных животных — мышей, крыс, хомяков («Лаборантснаб», Россия). Световой день составлял 12 ч (с 7:00 до 19:00), освещенность в светлый период цикла — 70–90 лкс, температура в помещении постоянного содержания — 22 °С.

В каждом эксперименте участвовало пять животных. Исследуемые пептиды HАЕЕGGGGK-Cy5 и HASSGGGGK-Cy5 (чистота > 95% по данным ВЭЖХ). Перед введением пептиды растворяли в стерильном 0,9%-м растворе NaCl до конечной концентрации 250 мкМ. Полученные растворы фильтровали через 0,22 мкм фильтр и вводили внутривенно в хвостовую вену ($n = 4$ животных на группу) в объеме 100 мкл. Контрольной группе вводили 100 мкл 0,9%-го раствора NaCl.

Визуализацию прижизненной флуоресценции осуществляли с помощью IVIS Spectrum CT imaging system (Perkin Elmer, США) во временных точках 15 мин, 1 ч, 2 ч, 3 ч, 4 ч, 5 ч, 6 ч, 24 ч после введения. Все съемки флуоресценции выполняли под ингаляционной анестезией 2%-м изофлюраном (Аерран, Baxter HealthCare Corporation, США) в смеси с воздухом.

Для последующих экспериментов животных анестезировали внутривенной инъекцией тилетамина (Золетил, Virbac, Франция), после чего выполняли транскардиальную перфузию. Для этого надрезали правое предсердие, в левый желудочек вставляли канюлю и промывали кровеносное русло последовательно стерильным фосфатно-солевым буфером (Sigma-Aldrich, США) и раствором 10%-го забуференного формалина HistoSafe (Biovitrum, Россия). Затем извлекали органы и выполняли *ex vivo* съемку их флуоресценции.

Анализ флуоресценции и кинетическое моделирование

Эмиссию фотонов обсчитывали с использованием программы Living Image 4.3 с выбором региона интереса (ROI). Значения флуоресценции контрольного животного для каждой временной точки вычитали из значений флуоресценции животных для устранения систематических ошибок измерения. Для органов выполняли то же самое.

Широкопольная флуоресцентная микроскопия

Криосрезы толщиной 10 мкм были получены при помощи криотома HM525 (Thermo Scientific, США). Для дальнейшего анализа срезы фиксировали в 10%-м растворе забуференного формалина (Biovitrum, Россия) в течение 15 мин, последовательно 3 раза отмывали в фосфатно-солевом буферном растворе без Ca^{2+} и Mg^{2+} («ПанЭко», Россия) и заключали со средой VECTASHIELD Atifade Mounting Medium with DAPI (VectorLabs, США). Изображения были получены при помощи системы для визуализации EVOS FL Auto (Thermo Scientific, США).

Таблица 1. Средняя интенсивность флуоресценции (ф/с/см²/ср) пептидов HAEE и HASS в динамике

Время, ч	HAEE (Mean ± SD)*	HASS (Mean ± SD)*
0,25	$(1,23 \pm 0,18) \times 10^9$	$(1,31 \pm 0,19) \times 10^9$
1	$(4,61 \pm 0,51) \times 10^8$	$(2,11 \pm 0,18) \times 10^8$
2	$(1,76 \pm 0,16) \times 10^8$	$(8,69 \pm 0,75) \times 10^7$
3	$(1,21 \pm 0,09) \times 10^8$	$(6,04 \pm 1,01) \times 10^7$
4	$(9,53 \pm 1,07) \times 10^7$	$(5,57 \pm 0,92) \times 10^7$
5	$(7,53 \pm 0,82) \times 10^7$	$(4,93 \pm 0,94) \times 10^7$
6	$(7,87 \pm 0,99) \times 10^7$	$(4,20 \pm 0,71) \times 10^7$
24	$(3,14 \pm 0,28) \times 10^7$	$(1,97 \pm 0,23) \times 10^7$

Примечание: * — данные представлены как среднее ± среднеквадратичное отклонение (Mean ± SD) для $n = 4$

Статистический анализ

Анализ данных выполняли с помощью GraphPad Prism 8.0.1 (GraphPad Software, США). График зависимости интенсивности флуоресцентного сигнала от времени представлен в виде средних значений со среднеквадратичными отклонениями с линией тренда для двухкамерной модели. График накопления препарата в органах *ex vivo* содержит среднее, максимальное и минимальное значения в группе.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

После однократного внутривенного введения флуоресцентных пептидов HAEE и HASS мышам BALB/c были зарегистрированы временные изменения интенсивности флуоресценции (табл. 1). Оба соединения демонстрировали быструю системную абсорбцию с достижением максимума концентраций через 0,25 ч после введения, при этом HASS $((1,31 \pm 0,19) \times 10^9$ ф/с/см²/ср) показал на 6,5% более высокую интенсивность флуоресценции по сравнению с HAEE $((1,23 \pm 0,18) \times 10^9$ ф/с/см²/ср) с последующим экспоненциальным снижением показателей. Более наглядно полученные результаты представлены на рис. 1.

Построение полученных кинетических профилей в логарифмической шкале позволяют предположить двухкамерную модель элиминации пептидов HASS и HAEE (рис. 2).

Кинетические кривые HAEE и HASS (рис. 1, 2), описываемые двухкамерной моделью ($Ap = A_1 \cdot e^{-\alpha t} + A_2 \cdot e^{-\beta t}$), демонстрируют существенные различия в параметрах элиминации (табл. 2): HASS характеризуется доминированием быстрой фазы (96,43% против 93,37%), более высокой константой скорости — $(3,11 \text{ ч}^{-1}$ против $1,6 \text{ ч}^{-1}$) и укороченным $T_{1/2\alpha}$ (0,22 ч против 0,43 ч), что коррелирует с крутым начальным спадом на графиках, тогда как HAEE проявляет пролонгированную элиминацию с удлинённым $T_{1/2\beta}$ (4,39 ч против 2,76 ч), характеризуется пологим спадом на кинетической кривой и большим AUC ($3,69 \times 10^9$ против $1,51 \times 10^9$ ч·ф/с/см²/ср), что указывает на его потенциальное преимущество для длительной диагностики.

Исследование *ex vivo* накопления пептидов HAEE и HASS проводили через 24 ч после инъекции. Согласно полученным данным (рис. 3), пептиды демонстрируют различную органную специфичность: HAEE преимущественно локализуется в почках, тогда как HASS — в печени. Оба соединения накапливаются в легких и в мозге без статистически значимых межгрупповых различий ($p > 0,05$). В сердце и селезенке флуоресцентная интенсивность в группе HAEE была достоверно выше по сравнению с группой HASS ($p < 0,05$).

Более длительный период полувыведения HAEE обусловлен его преимущественной почечной элиминацией, что подтверждено флуоресцентной микроскопией срезов, выявившей интенсивное накопление флуоресцентного сигнала в эпителии почечных канальцев (рис. 4), что согласуется с данными IVIS (рис. 5), где почки

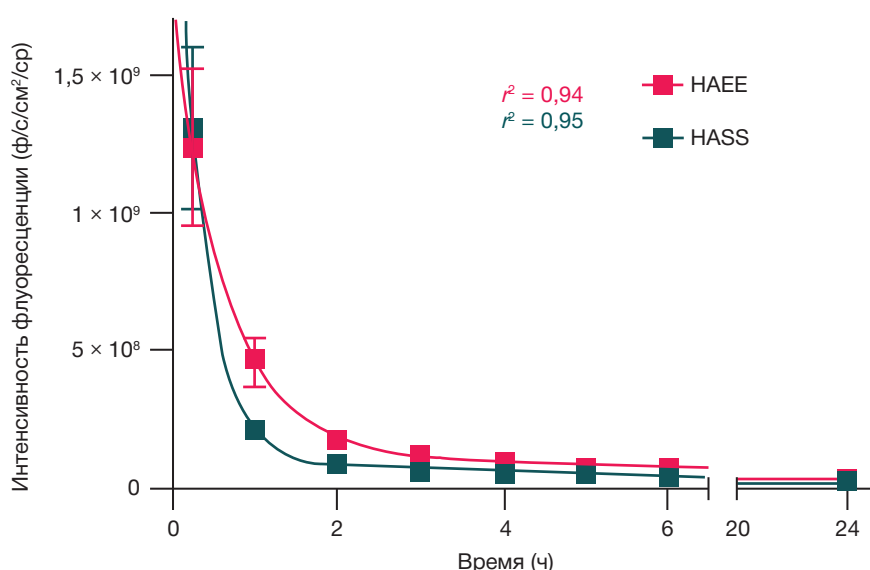


Рис. 1. Кинетические кривые флуоресценции исследуемых пептидов HAEE ($r^2 = 0,94$) и HASS ($r^2 = 0,95$) *in vivo*

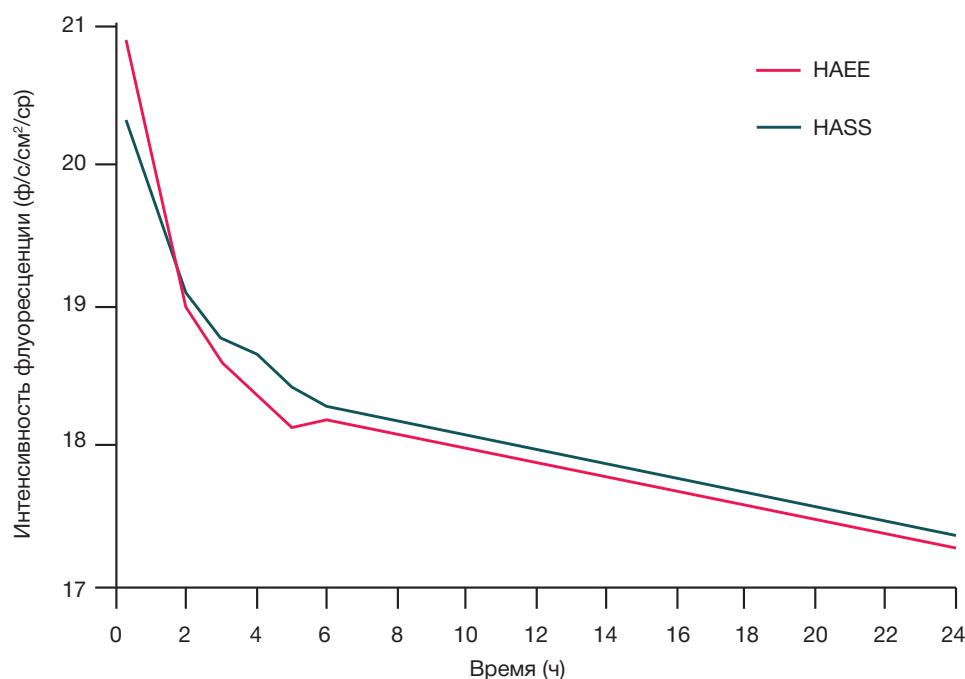


Рис. 2. Сравнительная кинетика элиминации пептидов HAEE и HASS

демонстрируют более высокий флуоресцентный сигнал по сравнению с другими органами через 24 ч, тогда как HASS преимущественно аккумулируется в печени (рис. 5).

Исследование репрезентативных микрофотографий срезов тканей почек мыши подтверждает повышенное содержание HAEE в виде скопления большого числа Cu^{2+} агрегатов в клетках проксимальных канальцев эпителия почек (рис. 4А, Б) в сравнении с HASS (рис. 4В, Г).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Наши исследования выявили существенные различия в биораспределении пептидов HAEE и HASS, что может быть объяснено их структурно-функциональными особенностями. HAEE, обладая небольшой молекулярной массой (< 2 кДа) и слабым отрицательным зарядом, демонстрирует преимущественно почечную экскрецию. Этот процесс характерен для низкомолекулярных пептидов [14], которые после клубочковой фильтрации подвергаются реабсорбции через пиноцитоз. Наличие флуоресцентной метки Суанип 5 (Су5) в структуре пептида может увеличивать его липофильность, способствуя проникновению через клеточные мембраны, в частности, в эпителий проксимальных канальцев почек, что объясняет наблюдаемое накопление соединения в почечной ткани. Нельзя также исключить возможность специфического

взаимодействия пептида с клеточными рецепторами, однако этот аспект требует дальнейшего изучения. Проникновение HAEE в печень может осуществляться посредством облегченного транспорта через мембраны гепатоцитов и клеток Купфера. Кроме того, учитывая ключевую роль печени в процессах метаболизма и детоксикации, накопление пептида в этом органе может быть связано с его биотрансформацией или активным транспортом через гепатоциты. При системном введении легочный эпителий также проницаем для малых липофильных молекул [15], что подтверждается обнаружением флуоресцентного сигнала в легких. Экспериментальные исследования на мышах BALB/c продемонстрировали, что HAEE характеризуется преимущественно почечным выведением, что подтверждается тремя ключевыми наблюдениями: 1) высокой флуоресцентной интенсивностью в почках через 24 ч после введения, зарегистрированной как методом IVIS-визуализации, так и флуоресцентной микроскопией; 2) пролонгированным периодом полувыведения ($T_{1/2}\beta = 4,39$ ч), что объясняется процессом реабсорбции в почечных канальцах; 3) быстрой начальной элиминацией ($T_{1/2}\alpha = 0,43$ ч), свидетельствующей об отсутствии стабильных комплексов с белками плазмы крови.

В отличие от HAEE, пептид HASS обладает нейтральным зарядом и демонстрирует принципиально иные фармакокинетические характеристики. Его

Таблица 2. Сравнение фармакокинетических параметров HAEE и HASS после внутривенного введения

Параметр	HAEE	HASS
Фаза быстрой элиминации, %	93,37	96,43
α , ч	1,6	3,11
β , ч	0,16	0,25
$T_{1/2}$ быстрой фазы распределения, ч	0,43	0,22
$E_{1/2}$ фазы элиминации, ч	4,39	2,76
A_1 быстрой фазы распределения, ф/с/см²/ср	$1,64 \times 10^9$	$2,61 \times 10^9$
A_2 фазы элиминации, ф/с/см²/ср	$1,16 \times 10^8$	$9,67 \times 10^7$
AUC ($0 \rightarrow \infty$), ч * ф/с/см²/ср	$3,69 \times 10^9$	$1,51 \times 10^9$

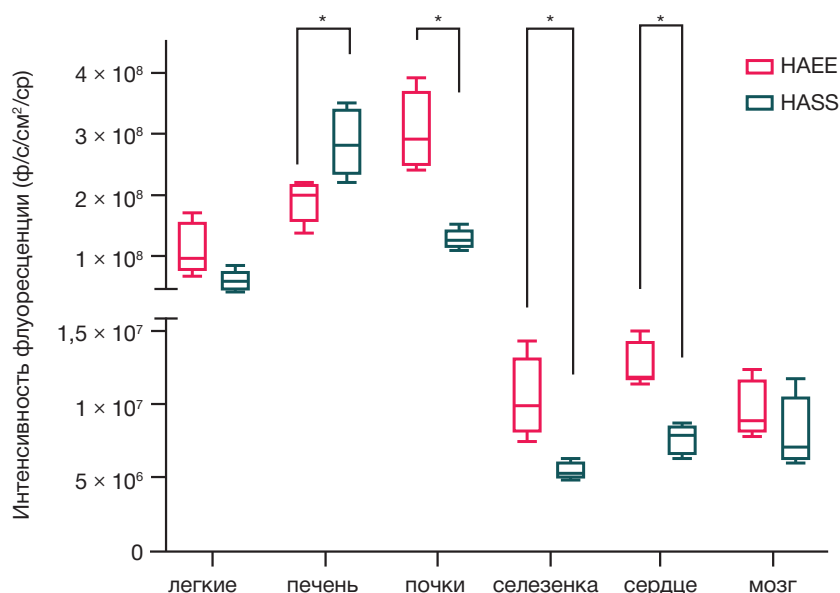


Рис. 3. *Ex vivo* анализ накопления HAAE и HASS в органах через 24 ч после внутривенного введения. * — $p < 0,05$, статистическая значимость между группами с использованием критерия Манна-Уитни

пиковый флуоресцентный сигнал на 6,5% превышает аналогичный показатель HAAE, что, вероятно, обусловлено уменьшенным связыванием с тканевыми структурами. Для HASS характерна ускоренная элиминация с периодами полувыведения $T_{1/2\alpha} = 0,22$ ч и $T_{1/2\beta} = 2,76$ ч, обусловленная, скорее всего, активным захватом гепатоцитами. Исследования *ex vivo* через 24 ч после введения подтвердили избирательное накопление пептида в печеночной ткани.

Несмотря на схожие размеры (< 2 кДа), HAAE показывает в 1,7 раз лучшую проницаемость гематоэнцефалического барьера (AUC ($0 \rightarrow \infty$)), вероятно,

благодаря электростатическим эффектам и особенностям взаимодействия с транспортными системами.

Полученные результаты демонстрируют выраженные различия в органном распределении исследуемых пептидов. В частности, установлено, что HAAE преимущественно экскретируется почками, что определяет его потенциальную диагностическую ценность при почечных патологиях. В отличие от HAAE, HASS проявляет выраженную гепатоспецифичность и высокую скорость печеночного метаболизма, что позволяет рассматривать его как перспективную основу для разработки печеночно-

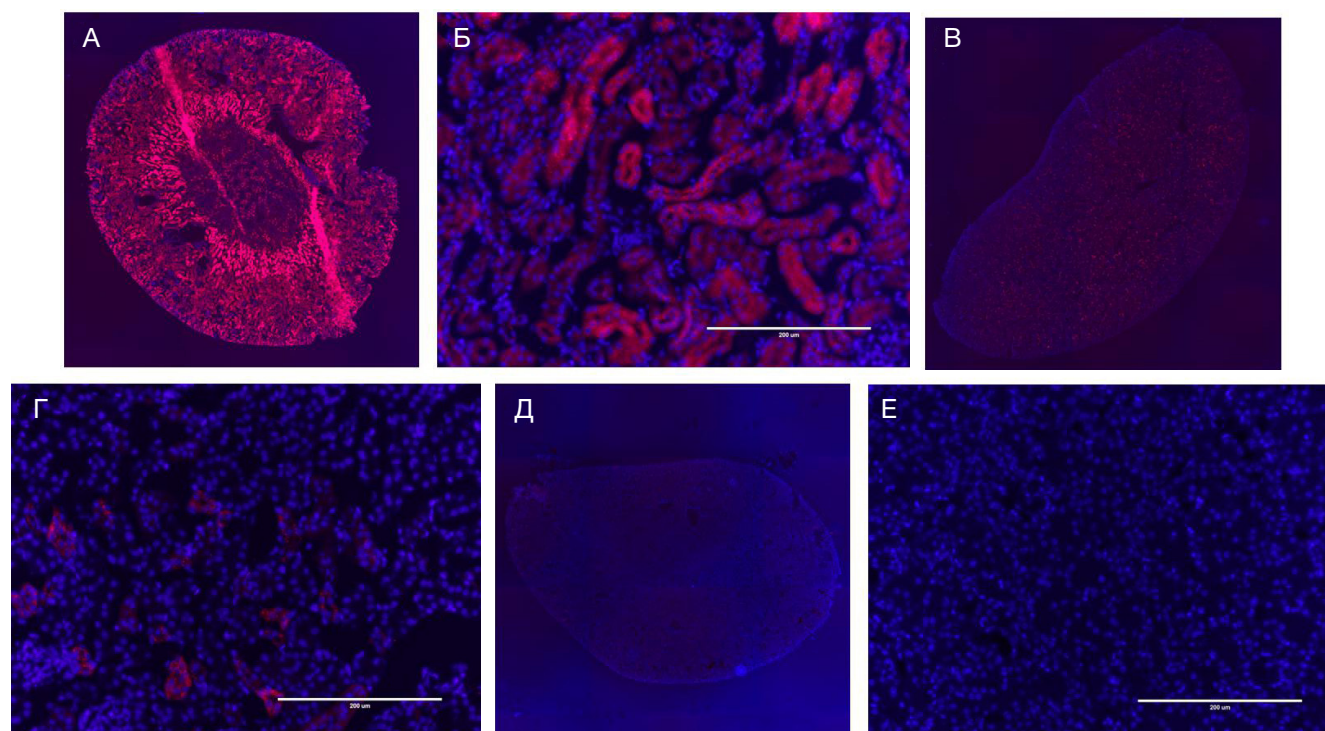


Рис. 4. Гистологический анализ тканей почек мыши после системного введения HAAE и HASS. **А, Б.** Локализация HAAE, меченного Су5 (красный), в почках мышей через 24 ч после внутривенного введения. **А.** Тотальный срез почки мыши. **Б.** Накопление флуоресцентных гранул в эпителиальных клетках проксимальных канальцев почки. **В, Г.** Локализация HASS, меченного Су5 (красный), в почках мышей через 24 ч после внутривенного введения. **В.** Тотальный срез почки мыши. **Г.** Накопление флуоресцентных гранул в эпителиальных клетках проксимальных канальцев почки. **Д, Е.** Почки мышей контрольной группы через 24 ч после внутривенного введения физиологического раствора. **Д.** Тотальный срез почки. **Е.** Увеличенное изображение ткани почки, полученное в результате наложения красной и синей флуоресценции. Ядра окрашены DAPI (синий). Масштабный отрезок — 200 мкм

направленных систем доставки. Присутствие метки Су5 увеличивает липофильность обоих пептидов, что способствует их проникновению через клеточные мембраны, однако ограниченное прохождение через гематоэнцефалический барьер (особенно для HASS) указывает на необходимость структурной оптимизации для нейродиагностических применений. Для более полного понимания механизмов биораспределения тетрапептидов требуются дополнительные исследования: 1) идентификация транспортных систем (мегалин/ОАТР (транспортный полипептид органических анионов)); 2) полный метаболический профиль в биологических жидкостях; 3) корреляция между структурными изменениями пептидов и их органным распределением.

ВЫВОДЫ

Таким образом, проведенное сравнительное исследование выявило фундаментальные различия в поведении HAAE и HASS *in vivo*. Пептиды демонстрируют не только различную органную тропность, но и принципиально разные фармакокинетические профили (включая период полувыведения $T_{1/2}$), что открывает перспективы для их дифференцированного применения в диагностике и направленной доставке лекарств. Установлено, что HAAE с коротким $T_{1/2}$ и почечной экскрецией перспективен для разработки диагностических радиофармпрепаратов, тогда как HASS с гепатотропностью и быстрым печеночным метаболизмом представляет интерес для создания систем направленной доставки. Следует отметить, что полученные результаты были установлены на модели здоровых мышей. Эти данные требуют дальнейшего изучения на моделях

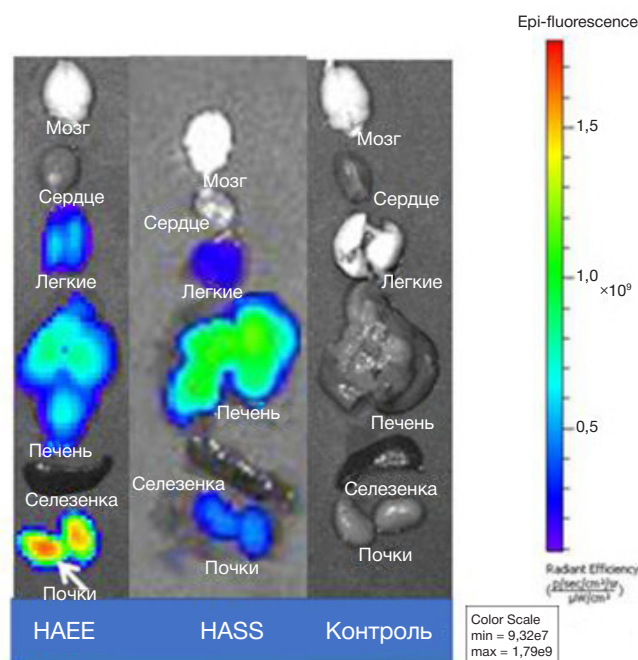


Рис. 5. Органная специфичность HAAE и HASS через 24 ч (IVIS). Белая стрелка указывает на почки с максимальным накоплением. Цветовая шкала: от синего (min) до красного (max)

трансгенных животных с болезнью Альцгеймера, но уже сейчас предлагают новые стратегии для комплексной терапии, сочетающей органоспецифичный транспорт пептидов и патогенетическое воздействие. Кроме того, влияние флуоресцентной метки на фармакокинетические параметры нуждается в отдельной оценке.

Литература

- Huang LK, Kuo HY, Chen HJ, et al. Clinical trials of new drugs for Alzheimer disease: a 2020–2023 update. *J Dent Res.* 2023; 88 (3): 1–19.
- Facts D. Alzheimer's disease facts and figures report: executive summary. *Alzheimers Dement.* 2024; 20 (5): 40–42.
- Adlard PA, Bush AI. A review of β -amyloid neuroimaging in Alzheimer's disease. *Front Neurosci.* 2014; 8 (OCT): 1–23.
- Thies W, Bleiler L. 2011 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement.* 2011; 7 (2): 208–44.
- Tackenberg C, Kulic L, Nitsch RM. Familial Alzheimer's disease mutations at position 22 of the amyloid β -peptide sequence differentially affect synaptic loss, tau phosphorylation and neuronal cell death in an ex vivo system. *PLoS One.* 2020; 15 (9): 1–14.
- Hayne DJ, Lim S, Donnelly PS. Metal complexes designed to bind to amyloid- β for the diagnosis and treatment of Alzheimer's disease. *Chem Soc Rev.* 2014; 43 (19): 6701–15.
- Carroll CM, Li YM. Physiological and pathological roles of the γ -secretase complex. *Brain Res Bull.* 2016; 126: 199–206.
- Haass C, Selkoe DJ. Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid β -peptide. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007; 8 (2): 101–12.
- Citron M. Alzheimer's disease: strategies for disease modification. *Nat Rev Drug Discov.* 2010; 9 (5): 387–98.
- Masters CL, Simms G, Weinman NA, et al. Molecular mechanisms for Alzheimer's disease: implications for neuroimaging and therapeutics. *J Neurochem.* 2006; 97 (6): 1700–25.
- Masters CL, Beyreuther K. Science, medicine, and the future: Alzheimer's disease. *BMJ.* 1998; 316 (7129): 446.
- Hippius H, Neundörfer G. The discovery of Alzheimer's disease. *Dialogues Clin Neurosci.* 2003; 5 (1): 101–8.
- Zolotarev YA, Dadayan AK, Bocharov EV, et al. Pharmacokinetics and molecular modeling indicate nAChR α 4-derived peptide HAAE goes through the blood-brain barrier. *Biomolecules.* 2021; 11 (6): 902.
- Maack T, Johnson V, Kau ST, et al. Renal filtration, transport, and metabolism of low-molecular-weight proteins: a review. *Kidney Int.* 1979; 16 (3): 251–70.
- Agu RU, Ugwoke MI, Armand M, et al. The lung as a route for systemic delivery of therapeutic proteins and peptides. *Respir Res.* 2001; 2 (4): 198–209.
- Alzheimer's disease. *Front Neurosci.* 2014; 8 (OCT): 1–23.
- Thies W, Bleiler L. 2011 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement.* 2011; 7 (2): 208–44.
- Tackenberg C, Kulic L, Nitsch RM. Familial Alzheimer's disease mutations at position 22 of the amyloid β -peptide sequence differentially affect synaptic loss, tau phosphorylation and neuronal

- cell death in an ex vivo system. *PLoS One*. 2020; 15 (9): 1–14.
6. Hayne DJ, Lim S, Donnelly PS. Metal complexes designed to bind to amyloid- β for the diagnosis and treatment of Alzheimer's disease. *Chem Soc Rev*. 2014; 43 (19): 6701–15.
7. Carroll CM, Li YM. Physiological and pathological roles of the γ -secretase complex. *Brain Res Bull*. 2016; 126: 199–206.
8. Haass C, Selkoe DJ. Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid β -peptide. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007; 8 (2): 101–12.
9. Citron M. Alzheimer's disease: strategies for disease modification. *Nat Rev Drug Discov*. 2010; 9 (5): 387–98.
10. Masters CL, Simms G, Weinman NA, et al. Molecular mechanisms for Alzheimer's disease: implications for neuroimaging and therapeutics. *J Neurochem*. 2006; 97 (6): 1700–25.
11. Masters CL, Beyreuther K. Science, medicine, and the future: Alzheimer's disease. *BMJ*. 1998; 316 (7129): 446.
12. Hippus H, Neundörfer G. The discovery of Alzheimer's disease. *Dialogues Clin Neurosci*. 2003; 5 (1): 101–8.
13. Zolotarev YA, Dadayan AK, Bocharov EV, et al. Pharmacokinetics and molecular modeling indicate nAChR α 4-derived peptide HAEE goes through the blood-brain barrier. *Biomolecules*. 2021; 11 (6): 902.
14. Maack T, Johnson V, Kau ST, et al. Renal filtration, transport, and metabolism of low-molecular-weight proteins: a review. *Kidney Int*. 1979; 16 (3): 251–70.
15. Agu RU, Ugwoke MI, Armand M, et al. The lung as a route for systemic delivery of therapeutic proteins and peptides. *Respir Res*. 2001; 2 (4): 198–209.

ДИНАМИКА МОЗГОВОГО НАТРИЙУРЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА И КОРТИКОСТЕРОНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ НА ФОНЕ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗОК

Т. И. Джандарова¹✉, М. О. Табунщикова², С. И. Кубанов¹, Д. А. Доменюк²

¹ Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия

² Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Россия

Умеренные физические нагрузки не только оказывают положительное влияние на общее состояние организма, но и могут выступать в качестве вполне доступного профилактического средства для сохранения здоровья, в частности, сердечно-сосудистой системы. Целью исследования было оценить адаптационные возможности сердечно-сосудистой системы при хронической сердечной недостаточности на фоне умеренных физических нагрузок в разных возрастных категориях. Умеренные физические нагрузки создавали у крыс в возрасте 6 и 19 месяцев принудительным плаванием в ванне с водой температурой 32–34 °С. На фоне тренировок хроническую сердечную недостаточность вызывали путем внутривентрикулярного введения антрациклинового антибиотика доксорубин в кумулятивной дозе 15 мг/кг, разделенной на шесть инъекций в течение 14 дней. У всех крыс на протяжении эксперимента через каждые семь дней определяли в сыворотке крови содержание мозгового натрийуретического пептида и кортикостерона иммуноферментным методом. Установлено, что при хронической сердечной недостаточности на фоне проводимых умеренных нагрузок адаптация миокарда значимо выше в обеих возрастных группах. Наиболее ярко она проявляется у стареющих крыс, о чем свидетельствует динамика содержания натрийуретического пептида в сыворотке крови на протяжении всего эксперимента. Как у крыс репродуктивного периода, так и у стареющих крыс адаптационные возможности организма при возникновении нарушений сердечной деятельности на фоне умеренных физических нагрузок оказываются выше, чем в условиях отсутствия тренировок.

Ключевые слова: физические нагрузки, хроническая сердечная недостаточность, мозговой натрийуретический пептид, кортикостерон

Вклад авторов: Т. И. Джандарова — дизайн и проведение эксперимента, материальная база, редактирование и анализ данных; М. О. Табунщикова — работа с животными и проведение иммуноферментного анализа, статистическая обработка и анализ данных; С. И. Кубанов — дизайн и анализ данных; Д. А. Доменюк — материальная база исследования.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет Минздрава России (протокол № 100 от 17 июня 2021 г.), проведено в соответствии с требованиями Приказа МЗ и СР РФ №708н от 23.08.2010 «Об утверждении правил лабораторной практики», требованиями Приказа МЗ СССР № 742 от 13.11.1984 «Об утверждении правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» и № 48 от 23.01.1985 «О контроле за проведением работ с использованием экспериментальных животных».

✉ **Для корреспонденции:** Тамара Исмаиловна Джандарова
проезд Молодежный, д. 17, г. Ставрополь, Россия; djandarova@yandex.ru

Статья получена: 07.08.2025 **Статья принята к печати:** 21.08.2025 **Опубликована онлайн:** 23.08.2025

DOI: 10.24075/vrgmu.2025.039

Авторские права: © 2025 принадлежат авторам. **Лицензиат:** РНИМУ им. Н. И. Пирогова. Статья размещена в открытом доступе и распространяется на условиях лицензии Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

BRAIN NATRIURETIC PEPTIDE AND CORTICOSTERONE DYNAMICS IN EXPERIMENTAL CHRONIC HEART FAILURE DURING PHYSICAL ACTIVITY

Dzhandarova TI¹✉, Tabunshchikova MO², Kubanov SI¹, Domenyuk DA²

¹ North Caucasus Federal University, Stavropol, Russia

² Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia

Moderate exercise not only has a positive impact on overall health, but also can serve as a rather accessible preventive measure for maintaining health, particularly the cardiovascular system health. The study aimed to assess the cardiovascular system adaptive capacity in chronic heart failure with moderate exercise in different age groups. Moderate exercise was induced in 6- and 19-month-old rats by forced swimming in a water bath at 32–34°C. During training, chronic heart failure was induced by intraperitoneal administration of the anthracycline antibiotic doxorubicin (Teva) at a cumulative dose of 15 mg/kg, divided into 6 injections over 14 days. Serum levels of brain natriuretic peptide and corticosterone were determined by ELISA every seven days throughout the experiment in all rats. It was found that with chronic heart failure and moderate exercise, myocardial adaptation was significantly higher in both age groups. It was most pronounced in aging rats, as evidenced by the dynamic changes of serum natriuretic peptide levels throughout the experiment. In both fertile-age and aging rats, the body's adaptive capacity in the event of cardiac dysfunction with moderate exercise is higher than in the absence of training.

Keywords: physical exercise, chronic heart failure, brain natriuretic peptide, corticosterone

Author contribution: Dzhandarova TI — experimental design and procedure, material resources, editing and data analysis; Tabunshchikova MO — animal handling and enzyme-linked immunoassay, statistical processing and data analysis; Kubanov SI — design and data analysis; Domenyuk DA — material resources for the study.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Stavropol State Medical University (protocol No. 100 dated 17 June 2021) and conducted in accordance with the requirements of the Order of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 708n of 23.08.2010 “On approval of principles of laboratory practice”, Orders of the Ministry of Health of the USSR No. 742 of 13.11.1984 “On approval of the experimental animal handling principles” and No. 48 of 23.01.1985 “On regulation of the use of experimental animals”.

✉ **Correspondence should be addressed:** Tamara I. Dzhandarova
proezd Molodezhnyj, 17, Stavropol, Russia; djandarova@yandex.ru

Received: 07.08.2025 **Accepted:** 21.08.2025 **Published online:** 23.08.2025

DOI: 10.24075/brsmu.2025.039

Copyright: © 2025 by the authors. **Licensee:** Pirogov University. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Как известно, физические нагрузки оказывают положительное влияние на общее состояние организма и могут выступить в качестве вполне доступного профилактического средства для сохранения здоровья, в частности сердечно-сосудистой системы.

В ряде работ показана эффективность реабилитационных программ с включением физических нагрузок на основе динамики мозгового натрийуретического пептида у здоровых людей. При этом на фоне уже существующих сердечно-сосудистых заболеваний физические нагрузки вызывают выраженное повышение уровня мозгового натрийуретического пептида, что может быть связано с усугублением симптомов [1, 2]. Кроме того, физические нагрузки также рекомендуют как преадресацию для пациентов, которым предстоит хирургическое вмешательство на сердце и сосуды для улучшения его функциональных возможностей [3].

В то же время в настоящее время нет единого мнения о том, какие упражнения и как долго нужно выполнять, чтобы улучшить состояние сердечной деятельности [4], а механизмы влияния физических нагрузок разной интенсивности на сердечно-сосудистую систему на сегодняшний день остаются недостаточно изученными [5–7], особенно у людей в пожилом возрасте.

Возрастные изменения при естественном старении организма наряду с другими признаками сопровождаются также существенными сдвигами в нейрогормональной регуляции сердечно-сосудистой системы, в частности, появляются значительные функциональные изменения в гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системе. Возникающие нейрогормональные дисрегуляции сердечно-сосудистой системы обусловлены увеличением базальных уровней адренокортикотропного гормона (АКТГ) и кортизола, также происходит неадекватное повышение уровней этих гормонов при физическом стрессе. Эти изменения обуславливают непосредственное увеличение риска развития сердечно-сосудистых заболеваний даже на фоне непродолжительной терапии низкими дозами глюкокортикоидов, что отражается на дальнейшей жизни, прогнозе и исходах основного заболевания. Увеличение уровня этих гормонов создает более высокие риски сердечно-сосудистых событий, таких как инфаркт миокарда, инсульт, ишемическая болезнь сердца и хроническая сердечная недостаточность [8, 9]. Несомненно, что любые процессы в организме, приводящие к изменениям в сердечно-сосудистой системе, активируют эндокринную функцию миокарда. Кардиомиоциты в предсердиях вырабатывают натрийуретические пептиды, известные как предсердный натрийуретический фактор (или предсердный натрийуретический пептид) и мозговой натрийуретический пептид (или натрийуретический пептид В-типа). Натрийуретические пептиды обладают множеством физиологических эффектов и участвуют в многочисленных патофизиологических процессах. Кроме того, уровни натрийуретических пептидов в плазме крови, в частности мозгового натрийуретического пептида, являются мощными диагностическими и прогностическими биомаркерами заболеваний сердца [10–12].

Целью данной работы было оценить адаптационные возможности сердечно-сосудистой системы при хронической сердечной недостаточности на фоне умеренных физических нагрузок в разных возрастных категориях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на 72 крысах-самцах линии Вистар в возрасте 6 месяцев (репродуктивный период) и 19 месяцев (стареющие крысы). Животных содержали в условиях естественного освещения при температуре 20–22 °С и относительной влажности воздуха 60–70%, они имели свободный доступ к питьевой воде и стандартному для вивариев корму.

Животные каждого возрастного периода были разделены на четыре группы: в первую группу включили интактных крыс (контроль); во вторую — крыс, подвергавшихся умеренным физическим нагрузкам; в третью — крыс, которым моделировали хроническую сердечную недостаточность; в четвертую — крыс, которым моделировали хроническую сердечную недостаточность на фоне умеренных физических нагрузок.

Моделирование хронической сердечной недостаточности крысам проводили путем внутрибрюшинного введения кардиотоксичной дозы антрациклинового антибиотика доксорубицин (Teva) в кумулятивной дозе 15 мг/кг, разделенной на шесть инъекций в течение 14 дней [13].

В качестве контроля на внутрибрюшинное введение была группа животных, которым вводили внутрибрюшинно физиологический раствор. При сравнении и анализе полученных данных с показателями у контрольных интактных животных достоверно значимых различий не выявлено. Поэтому в работе данные экспериментальных животных сравнивали с показателями интактных контрольных животных.

Умеренные физические нагрузки моделировали принудительным плаванием животных в ванне с водой температурой 32–34 °С. Тренировки проводили ежедневно пять дней в неделю на протяжении трех недель. Цикл включал в себя 15 дней с сеансами тренировок. Первый сеанс тренировки длился 2 мин; длительность каждого последующего сеанса до 21-го дня увеличивали на 4 мин. В эксперимент животных брали через 1, 2 и 3 недели в процессе тренировок. У всех крыс под ингаляционным эфирным наркозом из хвостовой вены отбирали 1 мл крови в пробирки с активатором свертывания в соответствующие сроки исследования. Центрифугировали при 3000 об./мин в течение 15 мин, затем отбирали и хранили при –35 °С.

Для определения мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP) применяли «sandwich»-вариант иммуноферментного анализа с набором реагентов «NTBNP- ИФА- БЕСТ», а кортикостерона — набор реагентов DRG («ДРГ ИНСТРУМЕНТ, Г.М.Б.Х.», Германия). Оптическую плотность исследуемых гормонов измеряли на спектрофотометре планшетном, с кюветным блоком, в комплекте с ПО и планшетом µDrop, Thermo для анализа в микрообъеме (Multiskan SkyHigh, США). Уровень достоверности различий изучаемых показателей определяли с помощью *t*-критерия Стьюдента в соответствии с нормальным распределением вариационных рядов. Нормальность распределения определяли с помощью критерия Шапиро–Уилка. Результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У крыс репродуктивного периода в первые две недели тренировок содержание мозгового натрийуретического пептида в сыворотке крови не имело достоверных различий по сравнению как с их исходными данными,

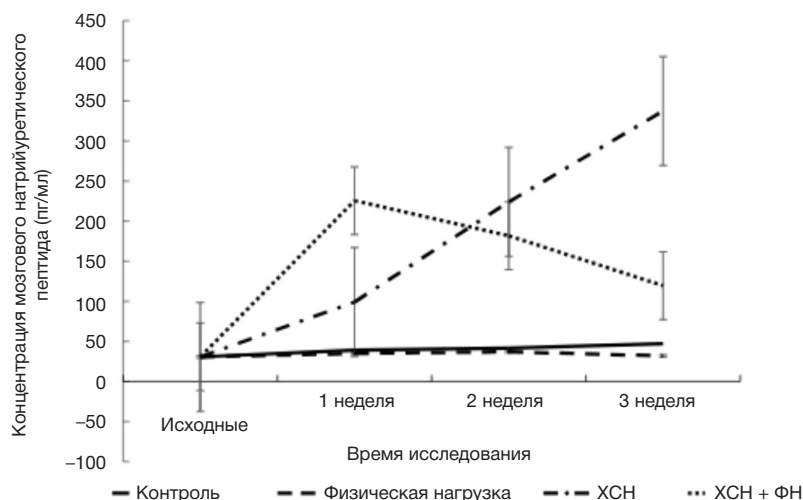


Рис. 1. Концентрация мозгового натрийуретического пептида в сыворотке крови у крыс в возрасте 6 месяцев

так и с показателями у крыс контрольной группы. В процессе адаптации к выполняемым тренировкам у этих животных происходило достоверное снижение его уровня в сыворотке крови по сравнению с данными у крыс контрольной группы (рис. 1).

В группе крыс этого же возрастного периода, которым моделировали хроническую сердечную недостаточность, наблюдались существенно высокие значения уровня мозгового натрийуретического пептида в сыворотке крови на протяжении всего эксперимента по сравнению как с исходными показателями, так и с данными у крыс контрольной группы (рис. 1).

При моделировании хронической сердечной недостаточности на фоне умеренных физических нагрузок выявлено достоверно высокое содержание мозгового натрийуретического пептида в сыворотке крови на первой неделе тренировок, а в последующие недели тренировок его уровень достоверно снижался по сравнению с данными у крыс с хронической сердечной недостаточностью (рис. 1). Выявленные изменения позволяют считать, что на фоне умеренных физических нагрузок адаптация миокарда к возможным нарушениям сердечной деятельности значительно увеличивается.

В процессе адаптации к умеренным физическим нагрузкам у крыс репродуктивного периода выявлено достоверное снижение содержания кортикостерона

в сыворотке крови на второй и третьей неделях эксперимента относительно как исходных значений его уровня, так и значений у крыс контрольной группы (рис. 2). У крыс репродуктивного периода, у которых моделировали хроническую сердечную недостаточность, значения кортикостерона в сыворотке крови были достоверно высокими на начальном этапе эксперимента по сравнению как с исходными данными у этих же крыс, так и по сравнению с показателями у крыс контрольной группы. В дальнейшем у этих животных значительно снижались адаптационные процессы, о чем свидетельствует достоверно низкое содержание кортикостерона в сыворотке крови в конце третьей недели исследования (рис. 2).

При моделировании хронической сердечной недостаточности у крыс в репродуктивном периоде на фоне тренировок в начале эксперимента происходило достоверное увеличение уровня кортикостерона в сыворотке по сравнению с исходными показателями и с данными у крыс контрольной группы. В последующее время эксперимента происходило снижение его содержания в сыворотке крови до уровня показателей у крыс контрольной группы, а в конце третьей недели исследования уровень кортикостерона в сыворотке крови был достоверно ниже по сравнению с данными у крыс контрольной группы, но выше, чем у крыс с хронической сердечной недостаточностью (рис. 2). Следовательно, у

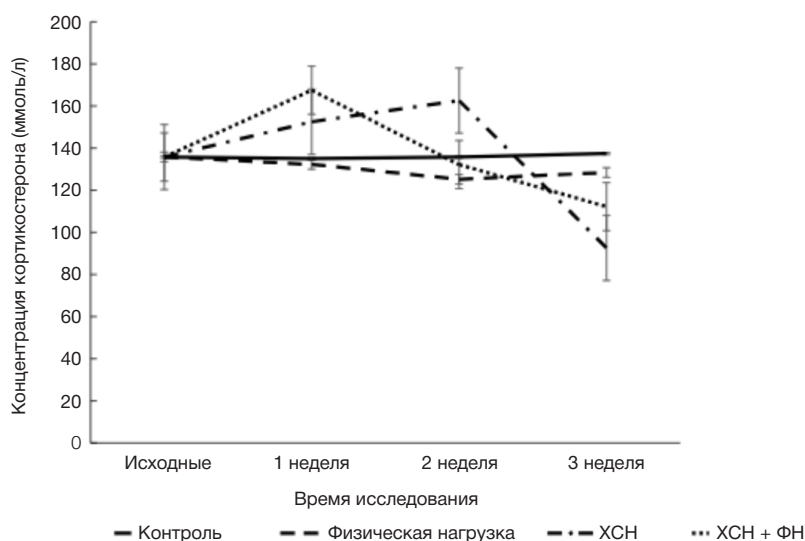


Рис. 2. Содержание кортикостероидов в сыворотке крови у крыс в возрасте 6 месяцев

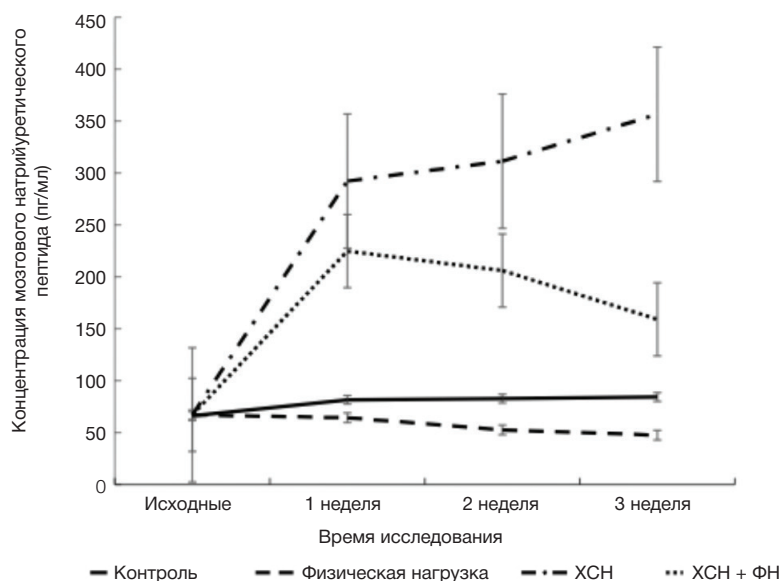


Рис. 3. Концентрация мозгового натрийуретического пептида в сыворотке крови у крыс в возрасте 19 месяцев

животных репродуктивного периода при возникновении нарушений сердечной деятельности на фоне умеренных физических нагрузок адаптационные возможности организма все же оказываются выше, чем в условиях отсутствия тренировок.

Как показывают далее результаты исследования, у крыс в период старения регулярные умеренные тренировки начиная с первой недели эксперимента способствовали достоверному снижению содержания мозгового натрийуретического пептида в сыворотке крови по сравнению как с их исходными данными, так и с показателями у крыс контрольной группы (рис. 3). Учитывая возрастное повышение данного пептида у стареющих крыс, можно считать, что умеренные физические нагрузки в условиях отсутствия нарушений в работе сердечно-сосудистой системы оказывают благоприятное воздействие на состояние миокарда.

В группе стареющих крыс, которым моделировали хроническую сердечную недостаточность наблюдалось существенное увеличение значений уровня мозгового натрийуретического пептида в сыворотке крови на протяжении всего эксперимента по сравнению с исходными показателями у этих же животных и с данными у крыс контрольной группы (рис. 3).

При моделировании хронической сердечной недостаточности на фоне умеренных физических нагрузок у стареющих крыс выявлено достоверно высокое содержание мозгового натрийуретического пептида в сыворотке крови по сравнению как с его исходными значениями, так и с данными у крыс контрольной группы. Однако после первой недели тренировок его уровень достоверно снижился по сравнению с данными у крыс с хронической сердечной недостаточностью (рис. 3). Выявленные изменения позволяют считать, что регулярные тренировки у стареющего организма улучшают сердечно-сосудистые функции и повышают эффективность работы сердца даже при возникновении нарушений сердечной деятельности.

В процессе адаптации к регулярным тренировкам у стареющих крыс выявлено умеренно достоверное повышение содержания кортикостерона в сыворотке крови на протяжении эксперимента по сравнению как с исходными значениями его уровня, так и с данными у крыс

контрольной группы (рис. 4). У стареющих крыс, которым моделировали хроническую сердечную недостаточность, значения кортикостерона в сыворотке крови были достоверно высокими на первой неделе эксперимента по сравнению как с исходными данными у этих крыс, так и по сравнению с показателями у крыс контрольной группы. В последующие недели эксперимента и, особенно, в конце третьей недели исследования у этих крыс значительно снижалось содержание кортикостерона в сыворотке крови, что указывает на снижение адаптационных процессов на фоне нарушения сердечной деятельности (рис. 4).

При моделировании хронической сердечной недостаточности у стареющих крыс на фоне тренировок в начале эксперимента происходило достоверное увеличение уровня кортикостерона в сыворотке по сравнению как с исходными показателями, так и с данными у крыс контрольной группы. В последующее время эксперимента вплоть до конца третьей недели происходило снижение его содержания в сыворотке крови до уровня показателей у крыс контрольной группы (рис. 4). Следовательно, у стареющих крыс при возникновении нарушений сердечной деятельности на фоне умеренных физических нагрузок адаптационные возможности организма оказываются выше, чем в условиях отсутствия тренировок.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Как известно, с возрастом в организме происходят существенные изменения во всех системах, что приводит к ограничению возможности адаптироваться к факторам среды, к истощению энергетических ресурсов. При этом, несомненно, активируются патолого-физиологические механизмы, приводящие в конечном счете к развитию сердечно-сосудистых и других заболеваний. Все это способствует ограничению двигательной активности пожилого человека, что также может усугубить усиление деструктивных процессов в организме.

В настоящее время одним из широко используемых маркеров состояния сердечной деятельности является семейство сердечных гормонов, в частности мозговой натрийуретический пептид, уровень которого

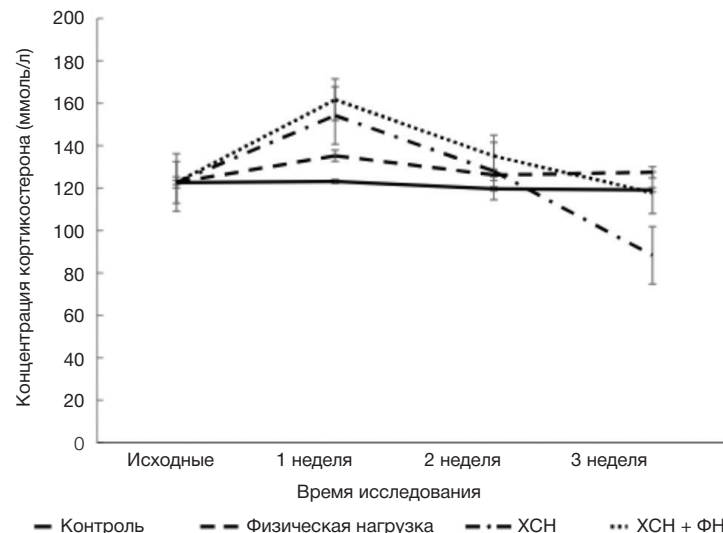


Рис. 4. Содержание кортикостероидов в сыворотке крови у крыс в возрасте 19 месяцев

повышается при растяжении стенок желудочков, вызванном перегрузкой или дисфункцией. Мозговой натрийуретический пептид выступает как важный биомаркер для диагностики и мониторинга сердечной недостаточности, поскольку увеличение его концентрации в крови у пациентов коррелирует со степенью тяжести сердечной недостаточности [1, 2, 10].

Как известно, сердечная недостаточность возникает из-за нарушений в структуре и функциях сердца, характеризуется задержкой воды и натрия, нарушением электролитного баланса и ухудшением функции почек. В наших ранее проведенных исследованиях также показано, что экспериментальная хроническая сердечная недостаточность приводила к прогрессивному увеличению содержания альдостерона, натрия и калия в сыворотке крови [14]. Действие же мозгового натрийуретического пептида направлено на уменьшение нагрузки на миокард через усиление диуреза, увеличение экскреции натрия. Повышение концентрации мозгового натрийуретического пептида в крови свидетельствует о снижении сократительной способности мышцы сердца и позволяет судить о сердечной недостаточности даже без использования эхокардиографии. Основным стимулом секреции натрийуретических пептидов являются повышение напряжения миокарда при увеличении давления или объема крови в левом желудочке сердца и механическое растяжение предсердий [15]. Глюкокортикоиды в свою очередь оказывают многофакторное воздействие на миокард за счет метаболических изменений, способствуют повышению давления, что является независимым фактором риска многих сердечно-сосудистых заболеваний [8].

Особенность нашего исследования в том, что мы моделировали умеренные физические нагрузки до появления каких-либо значимых нарушений в работе сердечно-сосудистой системы в репродуктивном периоде онтогенеза и в период старения организма. Установлено, что в обеих возрастных группах при адаптации к умеренным физическим нагрузкам происходило снижение уровня мозгового натрийуретического пептида в сыворотке крови. При создании модели хронической сердечной недостаточности на фоне проводимых умеренных нагрузок адаптация миокарда к возможным нарушениям сердечной деятельности значительно увеличивается в обеих возрастных группах, что особенно более ярко проявляется у стареющих крыс. При этом как у крыс репродуктивного

периода, так у стареющих крыс адаптационные возможности организма при возникновении нарушений сердечной деятельности на фоне умеренных физических нагрузок оказываются выше, чем в условиях отсутствия тренировок, о чем свидетельствует динамика содержания кортикостерона в сыворотке крови на протяжении всего эксперимента. Положительное влияние умеренных физических нагрузок на физиологические процессы в организме установлено и другими исследователями. В этих работах отмечается, что физическая активность — это источник веществ с терапевтическим действием, которые вырабатывает сам организм. Регулярная физическая активность благоприятно влияет на гомеостаз, функцию и взаимодействие тканей [5].

Однако длительные и тяжелые физические нагрузки могут неблагоприятным образом сказываться на состоянии кардиомиоцитов, о чем свидетельствует значимое повышение мозгового натрийуретического пептида, связывающего жирные кислоты, копептин, тропонин [16, 17]. Несомненно, физическая нагрузка оказывает многогранное воздействие на уровень мозгового натрийуретического пептида, которое зависит от интенсивности и продолжительности нагрузки, а также от исходного состояния сердечно-сосудистой системы [1]. Как видно и из наших исследований, регулярные умеренные физические нагрузки должны присутствовать в жизни с молодого возраста еще до наступления возрастных изменений в деятельности сердечно-сосудистой системы, что позволит улучшить качество жизни стареющего организма.

ВЫВОДЫ

Установлено, что при создании модели хронической сердечной недостаточности на фоне проводимых умеренных нагрузок адаптация миокарда к возможным нарушениям сердечной деятельности значительно увеличивается в обеих возрастных группах, что более ярко проявляется у стареющих крыс. Как у крыс репродуктивного периода, так у стареющих крыс адаптационные возможности организма при возникновении нарушений сердечной деятельности на фоне умеренных физических нагрузок оказываются выше, чем в условиях отсутствия тренировок, о чем свидетельствует динамика содержания кортикостерона в сыворотке крови на протяжении всего эксперимента.

Литература

1. Мештель А. В., Мирошников А. Б., Смоленский А. В. Влияние физической нагрузки на мозговой натрийуретический пептид при различных состояниях сердечно-сосудистой системы: обзор предметного поля. Медицинский алфавит. 2024; (16): 65–68. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-16-65-68>.
2. Badiani S, van Zalen J, Althunayyan A, Al-Borikan S, Treibel T, Marshall A, et al. Natriuretic peptide release during exercise in patients with valvular heart disease: A systematic review. *Int J Clin Pract.* 2021; 75 (10): 14137. Available from: <https://doi.org/10.1111/ijcp.14137>.
3. Drudi LM, Tat J, Ades M, Mata J, Landry T, MacKenzie KS, et al. Preoperative Exercise Rehabilitation in Cardiac and Vascular Interventions. *Journal of Surgical Research.* 2019; 237: 3–11. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jss.2018.11.042>.
4. Alphonsus CS, Govender P, Rodseth RN, Biccard BM. The role of cardiac rehabilitation using exercise to decrease natriuretic peptide levels in non-surgical patients: a systematic review. *Perioper Med (Lond).* 2019; 18: 8–14. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jss.2018.11.042>.
5. Котовская Ю. В., Ткачёва О. Н., Рунихина Н. К., Лузина А. В. Физические нагрузки как средство профилактики сердечно-сосудистых заболеваний у пожилых пациентов. *Доктор.Ру.* 2019; 2 (157): 19–22. DOI: 10.31550/1727-2378-2019-157-2-19-22.
6. Никулин Ю. И. Влияние атлетической гимнастики на адаптацию сердечно-сосудистой системы студентов к физическим нагрузкам. Ученые записки университета им. П. Ф. Лесгафта. 2021; 1 (191): 271–4.
7. Байсеитова А. Б., Молдабеков Е. О., Аманбаева Г. Т. Влияние физических упражнений на сердечно-сосудистую систему. *Инновации. Наука. Образование.* 2022; 52: 900–8.
8. Джериева И. С., Волкова Н. И., Давиденко И. Ю., Решетников И. Б., Бровкина С. С. и др. Глюкокортикоидная терапия — фактор риска сердечно-сосудистых заболеваний. *Медицинский вестник Юга России.* 2022; 13 (3): 93–106. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.21886/2219-8075-2022-13-3-93-106>.
9. Кошарная Р. С., Белая Ж. Е., Мамедова Е. О. и др. Сердечная недостаточность при эндогенном гиперкортицизме: особенности диагностики и обратимость при достижении ремиссии заболевания. Эффективная фармакотерапия. 2023; 19 (55): 6–14. DOI 10.33978/2307-3586-2023-19-55-6-14.
10. Götz JP, Bruno BG, Ramos HR, et al. Cardiac natriuretic peptides. *Nat Rev Cardiol.* 2020; 17: 698–717. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41569-020-0381-0>.
11. Бугрова М. Л., Яковлева Е. И., Абросимов Д. А. Взаимосвязь интенсивности синтеза, накопления и секреции предсердного натрийуретического пептида кардиомиоцитов с уровнем регуляции сердечного ритма у крыс в условиях раннего постреперфузионного периода. *Современные технологии в медицине.* 2012; 3: 26–30.
12. Бугрова М. Л., Абросимов Д. А., Яковлева Е. И. Влияние Мексидола на мозговой натрийуретический пептид кардиомиоцитов в постреперфузионном периоде в эксперименте. *Современные технологии в медицине.* 2015; 7 (3): 40–46.
13. Казаченко А. А., Оковитый С. В., Куликов А. Н. и др. Экспериментальное моделирование хронической сердечной недостаточности. *Биомедицина.* 2013; 3: 41–48.
14. Джандарова Т. И., Табунщикова М. О., Кубанов С. И., Манвелян Э. А., Эбзеева Л. Х. Электролитный дисбаланс при нарушении деятельности сердечно-сосудистой системы и его профилактика. *Современные вопросы биомедицины.* 2024; 8 (27): 7–8.
15. Конторщикова К. Н. Клинико-информационная ценность новейших биомаркеров. *Ремедиум Приволжье.* 2015; 4 (134): 30–33.
16. Perrone MA, Macrini M, Maregnani A, et al. The effects of a 50 km ultramarathon race on high sensitivity cardiac troponin I and NT-proBNP in highly trained athletes [published online ahead of print, 2020 Jul 10]. *Minerva Cardioangiol.* 2020; 68 (4): 305–12. Available from: <https://doi.org/10.23736/S0026-4725.20.05281-0>.
17. Martinez-Navarro I, Sanchez-Gomez JM, Collado-Boira EJ, et al. Cardiac Damage Biomarkers and Heart Rate Variability Following a 118-Km Mountain Race: Relationship with Performance and Recovery. *J Sports Sci Med.* 2019; 18 (4): 615–22.

References

1. Meshtel AV, Miroshnikov AB, Smolenskij AV. Vlijanie fizicheskoj nagruzki na mozgovoj natrijoreticheskoj peptid pri razlichnyh sostojanijah serdechno-sosudistoj sistemy: obzor predmetnogo polja. *Medicinskij alfavit.* 2024; (16): 65–68. Available from: <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-16-65-68>.
2. Badiani S, van Zalen J, Althunayyan A, Al-Borikan S, Treibel T, Marshall A, et al. Natriuretic peptide release during exercise in patients with valvular heart disease: A systematic review. *Int J Clin Pract.* 2021; 75 (10): 14137. Available from: <https://doi.org/10.1111/ijcp.14137>.
3. Drudi LM, Tat J, Ades M, Mata J, Landry T, MacKenzie KS, et al. Preoperative Exercise Rehabilitation in Cardiac and Vascular Interventions. *Journal of Surgical Research.* 2019; 237: 3–11. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jss.2018.11.042>.
4. Alphonsus CS, Govender P, Rodseth RN, Biccard BM. The role of cardiac rehabilitation using exercise to decrease natriuretic peptide levels in non-surgical patients: a systematic review. *Perioper Med (Lond).* 2019; 18: 8–14. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jss.2018.11.042>.
5. Kotoskaja JuV, Tkachjova ON, Runihina NK, Luzina AV. Fizicheskie nagruzki kak sredstvo profilaktiki serdechno-sosudistyh zabolevanij u pozihilyh pacientov. *Doktor.Ru.* 2019; 2(157): 19–22. DOI: 10.31550/1727-2378-2019-157-2-19-22. Russian.
6. Nikulin Jul. Vlijanie atleticheskoy gimnastiki na adaptaciju serdechno-sosudistoj sistemy studentov k fizicheskim nagruzkam. *Uchenye zapiski universiteta im. P.F. Lesgafta.* 2021; 1 (191): 271–4. Russian.
7. Bajseitova AB, Moldabekov EO, Amanbaeva GT. Vlijanie fizicheskikh uprazhnenij na serdechno sosudistuju sistemu. *Innovacii. Nauka. Obrazovanie.* 2022; 52: 900–8. Russian.
8. Dzhериева IS, Volkova NI, Davidenko IJu, Reshetnikov IB, Brovkina SS, Avakova SM, Tishhenko JuV. Gljukokortikoidnaja terapija — faktor riska serdechno-sosudistyh zabolevanij. *Medicinskij vestnik Juga Rossii.* 2022; 13(3): 93–106. <https://doi.org/10.21886/2219-8075-2022-13-3-93-106>. Russian.
9. Kosharnaja RS, Belaja ZhE, Mamedova EO, i dr. Serdechnaja nedostatochnost' pri jendogenom giperkortizme: osobennosti diagnostiki i obratimost' pri dostizhenii remissii zabolevanija. *Jefferktivnaja farmakoterapija.* 2023; 19 (55): 6–14. DOI: 10.33978/2307-3586-2023-19-55-6-14.
10. Götz JP, Bruno BG, Ramos HR, et al. Cardiac natriuretic peptides. *Nat Rev Cardiol.* 2020; 17: 698–717. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41569-020-0381-0>.
11. Bugrova ML, Jakovleva EI, Abrosimov DA. Vzaimosvjaz' intensivnosti sinteza, nakoplenija i sekrecii predserdnogo natrijoreticheskogo peptida kardiomiocitov s urovnem regulacii serdechnogo ritma u krysv v uslovijah rannego postreperfuzyionnogo perioda. *Sovremennye tehnologii v medicine.* 2012; 3: 26–30. Russian.
12. Bugrova ML, Abrosimov DA, Jakovleva EI. Vlijanie Meksidola na mozgovoj natrijoreticheskoj peptid kardiomiocitov v postreperfuzyionnom periode v jeksperimente. *Sovremennye tehnologii v medicine.* 2015; 7 (3): 40–46. Russian.
13. Kazachenko AA, Okovityj SV, Kulikov AN, i dr. Jeksperimental'noe modelirovanie hronicheskoy serdechnoj nedostatochnosti. *Biomedicina.* 2013; 3: 41–48. Russian.
14. Dzhandarova TI, Tabunshhikova MO, Kubanov SI, Manveljan JeA, Jebzeeva LH. Jelektrolitnyj disbalans pri narushenii dejatel'nosti serdechno-sosudistoj sistemy i ego profilaktika. *Sovremennye*

- voprosy biomeditsiny. 2024; 8 (27): 7–8. Russian.
15. Kontorshhikova KN. Kliniko-informacionnaja cennost' novejshih biomarkerov. Remedium Privolzh'e. 2015; 4 (134): 30–33. Russian.
 16. Perrone MA, Macrini M, Maregnani A, et al. The effects of a 50 km ultramarathon race on high sensitivity cardiac troponin I and NT-proBNP in highly trained athletes [published online ahead of print, 2020 Jul 10]. Minerva Cardioangiol. 2020; 68 (4): 305–12. Available from: <https://doi.org/10.23736/S0026-4725.20.05281-0>.
 17. Martnez-Navarro I, Sanchez-Gomez JM, Collado-Boira EJ, et al. Cardiac Damage Biomarkers and Heart Rate Variability Following a 118-Km Mountain Race: Relationship with Performance and Recovery. J Sports Sci Med. 2019; 18 (4): 615–22.