

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)
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)
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@rsmu.press

СОТРУДНИЧЕСТВО manager@rsmu.press

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

Журнал включен в Scopus. CiteScore 2024: 0,7

Журнал включен в WoS. JIF 2024: 0,4

Индекс Хирша (h²) журнала по оценке Google Scholar: 11

Scopus®

WEB OF SCIENCE™

Google
scholar

SJR SCImago Journal & Country Rank 2024: 0,166

Журнал включен в DOAJ

Здесь находится открытый архив журнала

SJR
Scimago Journal & Country Rank

DOAJ

CYBERLENINKA

DOI выпуска: 10.24075/vrgmu.2026-03

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, MITLibraries, OpenAlex, Research4Life, Scholia, Wikidata, ZDB.

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



Подписано в печать 30.06.2026

Тираж 100 экз. Отпечатано в типографии Print.Formula

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)

Kobrinskii 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)

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)

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@rsmu.press

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

Indexed in Scopus. CiteScore 2024: 0.7



Indexed in WoS. JIF 2024: 0.4



Five-year h-index is 11



SCImago Journal & Country Rank 2024: 0.166



Indexed in DOAJ



Open access to archive



Issue DOI: 10.24075/brsmu.2026-03

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 30.06.2026

Circulation: 100 copies. Printed by Print.Formula
www.print-formula.ru

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ	5
Эктопированная ткань поджелудочной железы в дивертикуле Меккеля Ф. Р. Аринин, У. А. Наранов, П. В. Политаева, Е. С. Лиховцова, Л. А. Федорева, Е. В. Копыл, Т. Д. Набиева, Е. В. Куценко, А. Р. Рустамова Ectopic pancreatic tissue in Meckel's diverticulum Arinin FR, Naranov UA, Politaeva PV, Likhovtsova ES, Fedoreeva LA, Kopyl EV, Nabieva TD, Kutsenko EV, Rustamova AR	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	10
Влияние нокаута гена β -аррестина 2 на провоспалительный статус мышей в условиях стрептозотоцин-вызванного сахарного диабета А. А. Волкова, А. С. Гладкова β-Arrestin 2 knockout modulates inflammatory responses in a mouse model of streptozotocin-induced diabetes mellitus Volkova AA, Gladkova AS	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	21
Роль продуктов окислительной деструкции белков в патогенезе и прогрессировании наружного генитального эндометриоза М. В. Осиков, И. В. Курносенко, В. А. Крюков, В. А. Бивалькевич, В. А. Сумеркина Role of oxidative protein destruction products in the external genital endometriosis pathogenesis and progression Osikov MV, Kurnosenko IV, Kryukov VA, Bivalkevich VA, Sumerkina VA	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	27
Иммуномодулирующие эффекты плацентарной кондиционированной среды и HLA-DR-зависимых механизмов при преэклампсии у носителей аллеля HLA-DRB1*01:01 Л. Е. Сорокина, Д. Н. Кокоева, Н. Е. Кан, И. И. Фомочкина Immunomodulatory effects of the placental conditioned medium and HLA-DR-dependent mechanisms in carriers of the HLA-DRB1*01:01 alleles with preeclampsia Sorokina LE, Kokoeva DN, Kan NE, Fomochkina II	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	36
Целесообразность назначения альфакальцидола при вторичном гиперпаратиреозе у пациентов на гемодиализе: ретроспективное исследование Сара Джаафар Саадун, Аммар Мохаммед Атия, Ахмед Х. Ибрагим, Фатма М. Мостафа Appropriateness of prescribing alfacalcidol in secondary hyperparathyroidism in dialysis patients: a retrospective study Sarah Jaafar Saadoon, Ammar Mohammed Atiyah, Ahmed H. Ibrahim, Fatma M. Mostafa	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	42
Десинхронизация сенсомоторных ритмов при совершении квазидвижений, основанных на естественных движениях пальцев руки Е. П. Свириин, Д. А. Бердышев, С. Л. Шишкин Sensorimotor rhythm desynchronization during execution of quasi-movements based on natural finger movements Svirin EP, Berdyshev DA, Shishkin SL	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	51
Влияние электромиостимуляции на физическую активность и силу мышц брюшной стенки больных после сепарационной герниопластики Н. А. Демин, Е. Е. Ачкасов, Б. А. Поляев, А. А. Шишкин, А. И. Медведева, О. Е. Останин Effect of electromyostimulation on abdominal wall muscle activity and strength after separation hernioplasty (component separation technique) Demin NA, Achkasov EE, Polyayev BA, Shishkin AA, Medvedeva AI, Ostanin OE	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	58
Диклофенак натрия влияет на клеточность костного мозга, пул LSK-клеток и цитокиновый профиль у мышей с экспериментальным дерматитом Д. В. Бондоренко, А. С. Иванов, Т. П. Тананакина, С. А. Кащенко, И. А. Погорелова, И. А. Александров The effect of diclofenac sodium on bone marrow cellularity, the LSK cell pool, and cytokine profiles in mice with experimental dermatitis Bondorenko DV, Ivanov AS, Tananakina TP, Kashchenko SA, Pogorelova IA, Alexandrov IA	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	66
Экспериментальное исследование противоожогового действия нового крема на основе выделенных из <i>Ginkgo biloba L.</i> полипренолов А. А. Бобракова, Н. Г. Салихова, А. Н. Пантелеева, В. В. Яснецов, О. В. Проскурина, В. Ю. Балабаньян Experimental investigation of the burn-healing properties of a novel cream based on polyprenols derived from <i>Ginkgo biloba L.</i> Bobrakova AA, Salikhova NG, Panteleeva AN, Yasnetsov VV, Proskurina OV, Balabanyan VYu	

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

73

Оценка биосовместимости резорбируемых Zn-Mg сплавов *in vitro* и *in vivo*

И. И. Гордиенко, Д. О. Корнилов, С. П. Черный, В. М. Симарзина, Д. Ю. Распосиенко, А. Е. Слукина, М. И. Ивасенко, Д. Е. Винокуров, Д. Л. Зорников

Evaluation of resorbable Zn-Mg alloy biocompatibility *in vitro* and *in vivo*

Gordienko II, Kornilov DO, Chernyi SP, Simarzina VM, Rasposienko DY, Slukina AE, Ivasenko MI, Vinokurov DE, Zornikov DL

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

84

Анализ биосовместимости микроструктурированных полимерных материалов, перспективных для применения в реконструктивной хирургии

М. А. Габрияничик, О. Ю. Антонова, М. Е. Тайлаков, В. А. Грачев, К. С. Пирогов, О. И. Старцева, И. Л. Канев

Biocompatibility of microstructured polymer materials with potential use in reconstructive surgery

Gabriyanichik MA, Antonova OY, Taylakov ME, Grachev VA, Pirogov KS, Startseva OI, Kanev IL

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

96

Идентификация, происхождение и географическое распространение редких евразийских гаплотипов гена ATM

М. В. Олькова, С. М. Кошель, Г. Ю. Пономарев, А. А. Алимов

Identification, origin and geographic spread of rare Eurasian ATM haplotypes

Olkova MV, Koshel SM, Ponomarev GYu, Alimov AA

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

105

Оценка иммуногенности препаратов против вируса гриппа на основе классических и самоамплифицирующихся РНК

Д. А. Куньк, Е. П. Мазунина, Е. А. Мукашева, А. В. Игнатьева, Е. С. Кириллова, О. М. Курченко, Р. А. Иванов, В. А. Гущин, В. В. Решетников

Assessment of the immunogenicity of classic and self-amplifying RNA-based antiviral therapeutics for influenza

Kunyk DA, Mazunina EP, Mukasheva EA, Ignatieva AV, Kirillova ES, Kurchenko OM, Ivanov RA, Gushchin VA, Reshetnikov VV

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

113

Оценка стабильности липидного профиля посмертного биоматериала для развития методов интраоперационной диагностики

Е. В. Парочкина, А. А. Румянцова, Д. К. Семёнова, Д. С. Бормотов, А. А. Темнов, Г. С. Ступникова, Д. С. Заворотнюк, К. В. Бочаров

Assessment of lipid profile stability in postmortem samples for the development of intraoperative diagnostic methods

Parochkina EV, Rumiantseva AA, Semyonova DK, Bormotov DS, Temnov AA, Stupnikova GS, Zavorotnyuk DS, Bocharov KV

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

121

Клиническое течение болезни Вильсона–Коновалова и приверженность терапии

И. Г. Тулузановская, М. С. Балашова, О. С. Сенина, О. М. Сизякова, Г. Лейсан кызы Гусейнова, Н. М. Мамадшоева, Т. П. Розина, Н. А. Жученко

The clinical course of Wilson's disease and treatment adherence

Tuluzanovskaya IG, Balashova MS, Senina OS, Sizyakova OM, Leisan kyzy Huseynova G, Mamadshoeva NM, Rozina TP, Zhuchenko NA

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

126

Лиганд 19 хемокина (мотив C-C) и интерлейкин 23 у пациентов с постлаймским синдромом с поражением нервной системы

Н. С. Баранова, Я. С. Остапенко, А. А. Баранов, Л. А. Овсяникова, Н. Н. Спирин, О. П. Речкина, С. С. Золотавкина, О. В. Вдовенко, Н. В. Семечкин

Chemokine (C-C motif) ligand 19 and interleukin-23 in patients with post-Lyme disease syndrome and neurological involvement

Baranova NS, Ostapenko YaS, Baranov AA, Ovsyanikova LA, Spirin NN, Rechkina OP, Zolotavkina SS, Vdovenko OV, Semechkin NV

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

137

Морфофункциональные изменения верхних дыхательных путей после быстрого небного расширения у подростков

О. М. Мрикаева, Ф. Т. Ахматова, М. Р. Какаева, Е. У. Расуханова, С. С-Х. Эльмурзаев, Б. Х. Джабраилов, С. Т. Юсупова, С. Л. Тугуева, С. М. Идрисова

Morphological and functional changes in the upper respiratory tract following rapid palatal expansion in adolescents

Mrikaeva OM, Akhmatova FT, Kakaeva MR, Rasukhanova EU, Elmurzaev SS-Kh, Dzhabrailov BKh, Yusupova ST, Tugueva SL, Idrisova SM

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

142

Оригинальный комплекс пептидов влияет на скорость потребления кислорода тканью простаты у крыс

А. О. Лобкарев, А. А. Мужехоев, М. К. Евлоев, Р. Б. Джандигов, И. А. Коригов

The original peptide complex affects the prostate tissue oxygen consumption rate in rats

Lobkarev AO, Muzhekhoev AA, Evloev MK, Dzhandigov RB, Korigov IA

ЭКТОПИРОВАННАЯ ТКАНЬ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ДИВЕРТИКУЛЕ МЕККЕЛЯ

Ф. Р. Аринин¹✉, У. А. Наранов¹, П. В. Политаева¹, Е. С. Лиховцова¹, Л. А. Федорева², Е. В. Копыл², Т. Д. Набиева², Е. В. Куценко², А. Р. Рустамова¹

¹ Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия

² Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

Представлен редкий случай воспаления дивертикула Меккеля с эктопированной тканью поджелудочной железы у 18-летнего пациента. Проведена лапароскопия с конверсией в лапаротомию. При интраоперационной ревизии обнаружен воспаленный дивертикул Меккеля, что послужило основанием для выполнения сегментарной резекции пораженного участка тонкой кишки с формированием энтеро-энтероанастомоза. Патоморфологическое исследование операционного материала выявило наличие зрелой экзокринной ткани поджелудочной железы без признаков клеточной атипии, что подтвердило наличие панкреатической гетеротопии в дивертикуле Меккеля. Представленный случай демонстрирует редкость подобного сочетания патологии, подчеркивает диагностические трудности на дооперационном этапе и акцентирует внимание на необходимости тщательной интраоперационной ревизии тонкой кишки, а также обязательной морфологической верификации для установления окончательного диагноза и определения дальнейшей тактики ведения пациента.

Ключевые слова: дивертикул Меккеля, эктопированная поджелудочная железа, резекция тонкой кишки

Вклад авторов: П. В. Политаева, Е. С. Лиховцова — написание и редактирование статьи; Ф. Р. Аринин, У. А. Наранов — обзор литературы, анализ данных, написание статьи; Е. В. Куценко, А. Р. Рустамова — обзор литературы, сбор данных, написание статьи; Е. В. Копыл, Т. Д. Набиева — концепция и дизайн, обзор литературы, написание статьи; Л. А. Федорева — обзор литературы, написание и редактирование статьи.

Соблюдение этических стандартов: пациент подписал добровольное информированное согласие на публикацию персональной медицинской информации в обезличенной форме.

✉ **Для корреспонденции:** Филипп Романович Аринин
ул. Шаумяна д. 90, г. Ростов-на-Дону, 344002, Россия; fil.arinin@mail.ru

Статья получена: 09.04.2026 **Статья принята к печати:** 30.04.2026 **Опубликована онлайн:** 24.05.2026

DOI: 10.24075/vrgmu.2026.024

Авторские права: © 2026 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/>).

ECTOPIC PANCREATIC TISSUE IN MECKEL'S DIVERTICULUM

Arinin FR¹✉, Naranov UA¹, Politaeva PV¹, Likhovtsova ES¹, Fedoreeva LA², Kopyl EV², Nabieva TD², Kutsenko EV², Rustamova AR¹

¹ Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

² Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Here we present a rare case of inflammation in the Meckel's diverticulum with the ectopic pancreatic tissue in a 18-year-old patient. Laparoscopy converted to laparotomy was performed. The inflamed Meckel's diverticulum was found during intraoperative revision, which was the reason to perform segmental resection of the affected area of the small intestine with the construction of an enteroenteric anastomosis. Pathological examination of surgical material revealed mature exocrine tissue of the pancreas without any signs of cellular atypia, which confirmed the presence of pancreatic heterotopia in the Meckel's diverticulum. The reported case demonstrates rarity of such combination of abnormalities, highlights diagnostic difficulties at the preoperative stage, and draws attention to the need for thorough intraoperative revision of the small intestine, as well as for mandatory morphological verification to establish the final diagnosis and determine further patient management tactics.

Keywords: Meckel's diverticulum, ectopic pancreas, acute abdomen, small bowel resection

Author contribution: Politaeva PV, Likhovtsova ES — manuscript writing and editing; Arinin FR, Naranov UA — literature review, data analysis, manuscript writing; Kutsenko E, Rustamova AR — literature review, data acquisition, manuscript writing; Kopyl EV, Nabieva TD — concept and design, literature review, manuscript writing; Fedoreeva LA — literature review, manuscript writing and editing.

Compliance with ethical standards: the patient submitted the informed consent for publishing anonymized personal medical information.

✉ **Correspondence should be addressed:** Filipp R. Arinin
Shaumyan 90, Rostov-on-Don, 344002, Russia; fil.arinin@mail.ru

Received: 09.04.2026 **Accepted:** 30.04.2026 **Published online:** 24.05.2026

DOI: 10.24075/brsmu.2026.024

Copyright: © 2026 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/>).

Первые упоминания о дивертикуле подвздошной кишки появились в 1598 г., когда немецкий хирург Вильгельм Фабрициус Хильданус описал необычный кишечный вырост. В последующем аналогичные наблюдения приводил и Фредерик Рюйш, и другие авторы XVII–XVIII вв. В 1700 г. Алексис Литтре сообщил о выявлении дивертикула подвздошной кишки в грыжевом мешке. Детальное морфологическое и эмбриологическое обоснование дивертикула Меккеля (ДМ) было дано Иоганном Фридрихом

Меккелем в начале XIX в., в честь которого дивертикул впоследствии получил свое название [1–3].

ДМ формируется вследствие неполной облитерации желточного протока (ductus omphalomesentericus), который является эмбриональной связкой между желточным мешком и развивающейся кишкой. В норме к 10-й неделе внутриутробного развития проток редуцируется. Нарушение данного процесса приводит к сохранению различных форм аномалий, включая свищи,

кисты желточного протока и при облитерации дистального конца протока и отделении его от брюшной стенки при сохранении широкого сообщения с просветом кишки — к ДМ [4, 5].

ДМ классифицируется как истинный дивертикул, поскольку его стенка включает все гистологические слои, характерные для нормальной кишечной стенки. В связи с плюрипотентностью прогениторных клеток, локализованных в оболочке желточного протока, данный дивертикул способен содержать различные типы тканей. Частота выявления гетеротопической ткани колеблется от 15 до 62%, при этом большинство исследований указывает на 50–60%. В бессимптомных случаях гетеротопическая ткань выявляется значительно реже (0–18,2%) [6–8].

Наиболее часто диагностируют участки слизистой желудка (62–85%) и ткани поджелудочной железы (0–12%), значительно реже — сочетание панкреатической ткани и желудочной слизистой (2–4%), а также присутствие слизистой тощей (около 2%) и двенадцатиперстной кишки, либо желез Бруннера (порядка 2%). Такие варианты, как наличие панкреатических островков, участков слизистой оболочки толстой кишки, эндометриоидной и гепатобилиарной ткани, встречаются казуистически редко [9–11].

Гетеротопированная (эктопированная) ткань поджелудочной железы — это панкреатическая ткань, не имеющая анатомической и сосудистой связи с основной железой. Впервые описана Ж. Шульцем в 1729 г. и гистологически подтверждена Ж. Клобом в 1859 г. Ее распространенность по данным аутопсий составляет 0,5–13,0%. Гетеротопическая поджелудочная железа может локализоваться в различных отделах желудочно-кишечного тракта, преимущественно в желудке, двенадцатиперстной и толстой кишке, реже — в других органах и тканях. В большинстве случаев протекает бессимптомно и выявляется случайно при инструментальных или хирургических вмешательствах. Возможные осложнения включают воспаление, изъязвление, кровотечение, обструкцию и малигнизацию.

Морфологически состоит из панкреатических протоков, ацинусов и островков Лангерганса. Согласно классификации Хейнриха (1909 г.), выделяют три типа гетеротопированной поджелудочной железы (с полным набором панкреатических элементов, преимущественно ацинарный и преимущественно протоковый), дополненные IV типом (только островковые клетки) по Фуэнтесу (1973 г.). Этиология остается неясной; основные теории включают смещение зачатков поджелудочной железы, метаплазию энтодермы и дифференцировку тотипотентных клеток [11].

Неосложненный ДМ в 95–98% случаев протекает бессимптомно, однако при осложнениях наблюдаются абдоминальная боль, кровотечения, дивертикулит и кишечная непроходимость, возникающая на фоне спаечного процесса (описаны также варианты течения с перекрытием дистального отдела дивертикула и его брыжейки, что приводит к нарушению кровоснабжения, ишемии и воспалению, проявляется типичной триадой: абдоминальной болью, рвотой и задержкой стула). Наиболее частое осложнение — кровотечение из язв эктопированной желудочной слизистой, сопровождающееся бледностью, тахикардией и возможным коллапсом. Реже встречается скрытое или рецидивирующее кровотечение, вызывающее анемию; кровавая рвота обычно отсутствует. Другие осложнения включают дивертикулит (у 20% пациентов, имеющих ДМ, клинически не отличим от острого аппендицита, что

затрудняет диагностику) с перфорацией и перитонитом, железодефицитную анемию, кишечную непроходимость, инвагинацию, бактериальные разрастания, грыжу Литтре и малигнизацию. Длина дивертикула > 2 см повышает риск осложнений [9, 12–17].

Злокачественные новообразования ДМ встречаются редко. Аденокарцинома составляет около 12–16% случаев выявленных ДМ с эктопией тканей [18] и преимущественно развивается из эктопической желудочной слизистой, опухоли из эктопической ткани поджелудочной железы наблюдаются крайне редко [19].

Диагностика ДМ затруднена из-за отсутствия специфических симптомов и возможности маскировки под другие заболевания (аппендицит, панкреатит, некротизирующий энтероколит у новорожденных). При развитии воспаления дивертикула (дивертикулита) клиническая картина практически неотличима от острого аппендицита, что обуславливает высокую частоту диагностических ошибок на дооперационном этапе. Диагностика ДМ представляет значительные трудности ввиду отсутствия патогномичных симптомов. Наиболее информативным методом является сцинтиграфия с Tc^{99m} , позволяющая выявлять эктопированную желудочную слизистую (чувствительность 85–90% у детей, 60% у взрослых). УЗИ, КТ и рентген малоинформативны; возможна капсульная эндоскопия или баллонная энтероскопия. Во многих случаях окончательный диагноз устанавливается интраоперационно. В связи с этим принципиальное значение имеет интраоперационная настороженность. При наличии клинической картины «острого живота» и отсутствии признаков воспаления червеобразного отростка показана обязательная ревизия подвздошной кишки с целью исключения ДМ и его осложнений. Такой подход позволяет снизить риск диагностических ошибок и улучшить результаты хирургического лечения.

Представляем редкий случай воспаленного дивертикула Меккеля с эктопированной тканью поджелудочной железы у 18-летнего пациента.

Описание клинического случая

Пациент, 18 лет, госпитализирован 19.01.2026 в ГБУ РО «Городская больница скорой медицинской помощи» г. Ростова-на-Дону с жалобами на выраженную разлитую боль в животе с максимальной локализацией в правой подвздошной области, сопровождающуюся тошнотой и двукратной рвотой.

Со слов пациента, указанные симптомы сохранялись около 12 ч. Из анамнеза известно, что за 6 ч до повторного обращения пациент уже обращался в приемное отделение той же медицинской организации, где был осмотрен хирургом и обследован. С учетом клинической картины пациенту была предложена диагностическая лапароскопия, однако от оперативного вмешательства он отказался.

В дальнейшем отмечено нарастание болевого синдрома, в связи с чем пациент повторно обратился за медицинской помощью.

Лабораторно-инструментальные исследования не выявили значимых отклонений: общий анализ крови и мочи, биохимический анализ крови находились в пределах нормы. При анализе кислотно-щелочного равновесия патологических изменений не выявлено. Состояние пациента при поступлении:

– АД — 98/64 мм рт. ст., ЧСС — 84 уд./мин., ЧДД — 18 уд./мин., субфебрильная температура тела — 37,1 °C;

– ультразвуковое исследование органов брюшной полости, забрюшинного пространства не выявило свободной жидкости в брюшной полости. УЗ-признаков структурных изменений почек, печени, поджелудочной железы не выявлено;

– обзорная рентгенография брюшной полости в прямой проекции в положении стоя не выявила уровней жидкости и свободного газа.

В течение месяца пациент отмечал периодическое возникновение разлитой боли в животе, в связи с чем выполнил фиброгастродуоденоскопию (ФГДС) и видеокOLONOSКОПИЮ (ВКС):

– заключение ФГДС от 11.12.2025: дистальный рефлюкс-эзофагит, эритематозная гастропатия. Гистологическое заключение: хронический слабо выраженный поверхностный гастрит;

– заключение ВКС от 11.12.2025: незначительно выраженный колит, патологических образований толстой кишки не выявлено.

С учетом сохраняющейся симптоматики и явной клинической картины ургентной абдоминальной патологии было принято решение о выполнении диагностической лапароскопии, позволяющей в ходе операции определить оптимальный объем вмешательства и тактику ведения пациента, с возможностью при необходимости конверсии доступа.

Хирургическое лечение

Оперативное вмешательство выполнено 19.01.2026.

Лапароскопический этап. В верхней левой точке Калька в условиях напряженного карбоксиперитонеума была произведена троакарная пункция брюшной полости.

При обзорной лапароскопии в полости малого таза выявили до 30 мл мутного серозного выпота, который эвакуирован электроотсосом; материал направлен на бактериологическое исследование. Червеобразный отросток длиной около 7 см и диаметром до 0,5 см бледно-розового цвета, расположен типично, признаков воспалительных изменений не выявлено. Печень обычных размеров и окраски. Желчный пузырь размерами около 8 × 3 × 2 см серо-голубого цвета, не напряжен. Передняя поверхность желудка и двенадцатиперстной кишки без видимых патологических изменений. Селезенка без особенностей. Петли тонкой кишки розового цвета, серозная оболочка гладкая, блестящая, перистальтика сохранена.

При ревизии тонкой кишки на расстоянии около 100 см от илеоцекального угла выявлен дивертикул Меккеля на широком основании размерами до 3 × 2 см. Дивертикул гиперемирован, отечен, покрыт наложениями фибрина и спаян с прилежащей петлей тонкой кишки. С учетом выявленных изменений принято решение о конверсии оперативного вмешательства.

Лапаротомический этап. Под эндотрахеальным наркозом была выполнена нижняя срединная лапаротомия длиной до 10 см. В операционную рану вывели петлю подвздошной кишки с дивертикулом Меккеля. Дивертикул располагался на расстоянии около 100 см от илеоцекального угла, имел широкое основание с переходом на брыжеечный край кишки, размеры дивертикула 4 × 3 × 2 см. Стенка дивертикула резко отечна и инфильтрирована. Прилежащий участок подвздошной кишки гиперемирован, отечен; серозная оболочка инъецирована сосудами, отмечались наложения фибрина. В брыжейке выявлены увеличенные

инъецированные лимфатические узлы. Иной патологии органов брюшной полости при ревизии не обнаружено. Была выполнена резекция сегмента подвздошной кишки вместе с дивертикулом с формированием межкишечного анастомоза по типу «бок в бок». Пройодимость кишечника восстановлена и сохранена.

Брюшная полость санирована 1,5 л раствора фурацилина и осушена. Установлены дренажи: полихлорвиниловый дренаж в малый таз справа и резиновый дренаж в область анастомоза. Операционная рана ушита послойно наглухо.

Патоморфологическое исследование выполнено 21.01.2026. Макроскопическое описание: фрагмент тонкой кишки размерами 8 × 5 см. Слизистая оболочка местами шероховатая, очагово-зернистая.

Микроскопическое описание: в стенке тонкой кишки (подслизистый слой, мышечная оболочка, субсерозная основа) выявляется зрелая дифференцированная ткань поджелудочной железы, представленная ацинусами и протоками. Признаки клеточной атипии, митотической активности и инвазивного роста отсутствуют. Отмечается гипертрофия окружающих мышечных волокон. Заключение: морфологическая картина соответствует эктопированной ткани поджелудочной железы (экзокринный вариант), локализованной в дивертикуле Меккеля.

Пересмотр гистологических препаратов

При пересмотре гистологических препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, подтверждено наличие дифференцированной зрелой ткани поджелудочной железы в стенке тонкой кишки. В подслизистом слое, мышечной оболочке и субсерозной основе визуализируются ацинарные структуры и протоки без признаков атипии, окруженные гипертрофированными мышечными волокнами. Морфологическая картина соответствует эктопированной ткани поджелудочной железы без признаков неоплазии.

Пациент был выписан на 14-е сутки после хирургического лечения с клиническим улучшением.

Пациент 18.02.2026 самостоятельно выполнил магнитно-резонансное исследование органов брюшной полости без контрастного усиления. По данным МРТ определяется незначительное количество свободной жидкости (до 2–3 мм) по контуру печени. Печень обычных размеров; в сегменте S7 выявляется кистозное образование диаметром до 3 мм, соответствующее простой кисте. Внутрпеченочные и внепеченочные желчные протоки не расширены. Желчный пузырь обычных размеров, отмечаются контурные деформации по типу перегибов, стенки не утолщены. Поджелудочная железа без структурных изменений; главный панкреатический проток до 2 мм, не расширен. Селезенка, надпочечники и почки без патологических изменений. Лимфатические узлы не увеличены.

Заключение МРТ: МР-картина небольшой кисты правой доли печени. Контурная деформация желчного пузыря. Данных, свидетельствующих о послеоперационных осложнениях, не получено.

Обсуждение клинического случая

Клиническая симптоматика при наличии гетеротопированной панкреатической ткани в ДМ, как правило, обусловлена развитием осложнений. Предполагается, что секреторная активность ацинарных структур может способствовать развитию локального воспалительного процесса,

изъявлению слизистой оболочки, формированию инфильтрации стенки дивертикула и спаечного процесса с петлями кишечника. В ряде случаев описываются эпизоды желудочно-кишечных кровотечений или клиническая картина «острого живота», что может имитировать острый аппендицит или другие воспалительные заболевания органов брюшной полости.

Представленное клиническое наблюдение демонстрирует редкий вариант осложненного ДМ, ассоциированного с наличием эктопированной ткани поджелудочной железы. Клиническая картина заболевания у пациента проявлялась симптомами острого абдоминального синдрома с преимущественной локализацией в правой подвздошной области, что первоначально могло соответствовать подозрению на острый аппендицит. Однако при диагностической лапароскопии червеобразный отросток оказался неизменным, тогда как при ревизии тонкой кишки был выявлен воспаленный ДМ.

Следует отметить, что дооперационная диагностика осложненного ДМ остается сложной задачей. Стандартные методы визуализации, такие как ультразвуковое исследование или компьютерная томография, не всегда позволяют достоверно установить данный диагноз. В большинстве случаев окончательный диагноз определяют интраоперационно, а подтверждение наличия эктопированной ткани — при патоморфологическом исследовании удаленного препарата.

Хирургическая тактика при осложненном ДМ заключается в его удалении. В зависимости от морфологических особенностей и распространенности воспалительного процесса может быть выбран разный объем оперативного вмешательства: дивертикулэктомия, клиновидная резекция или сегментарная резекция тонкой кишки с формированием межкишечного анастомоза. В

представленном наблюдении выраженные воспалительные изменения стенки дивертикула и прилежащего участка подвздошной кишки обусловили необходимость выполнения резекции тонкой кишки с наложением энтеро-энтероанастомоза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вышеизложенный случай имеет значительную клиническую и научную ценность ввиду редкости сочетания ДМ с эктопированной тканью поджелудочной железы и демонстрирует особенности диагностики и хирургической тактики при данной патологии.

В представленном клиническом наблюдении ДМ с эктопированной экзокринной тканью поджелудочной железы, проявившийся острым абдоминальным синдромом с локализацией в правой подвздошной области, что имитировало острый аппендицит, — наиболее типичный сценарий манифестации данной патологии. Окончательный диагноз был установлен интраоперационно при выполнении диагностической лапароскопии с ревизией тонкой кишки, а морфологическое исследование удаленного материала установило наличие гетеротопии. Данный случай подчеркивает клиническую важность тщательной интраоперационной оценки тонкой кишки у пациентов с картиной «острого живота» при отсутствии патологии червеобразного отростка, а также необходимость морфологической верификации для выявления редких вариантов гетеротопированных тканей.

Своевременное хирургическое вмешательство с выполнением резекции тонкой кишки и формированием межкишечного анастомоза позволило эффективно устранить источник воспаления и предотвратить развитие возможных осложнений.

Литература

- Uppal K, Tubbs RS, Matusz P, Shaffer K, Loukas M. Meckel's diverticulum: a review. *Clin Anat*. 2011; 24 (4): 416–22. DOI: 10.1002/ca.21094.
- Malligiannis Ntalianis D, Maloula RN, Malligiannis Ntalianis K, Giavopoulos P, Solia E, Chrysikos D, et al. Anatomical variations of vascular anatomy in Meckel's diverticulum. *Acta Med Acad*. 2022; 51 (3): 243–48. DOI: 10.5644/ama2006-124.394.
- Chaudhuri TK, Christie JH. False positive Meckel's diverticulum scan. *Surgery*. 1972; 71: 313.
- Mwila PK, Odendaal AT, Ahmed OI, Kakudji BK. Congenital ileal-mesenteric fibrous band remnant of the vitelline artery causing small bowel obstruction in an adult female: a case report. *Pan Afr Med J*. 2022; 41: 269. DOI: 10.11604/pamj.2022.41.269.29624.
- Date K, Yokota T, Maehara N Laparoscopic treatment of intestinal obstruction due to a vitelline vascular remnant and simultaneous appendicitis: a case report. *Surg Case Rep*. 2018; 4 (1): 105. DOI: 10.1186/s40792-018-0515-3.
- Parvanescu A, Bruzzi M, Voron T, Tilly C, Zinzindohoué F, Chevallier JM, et al. Complicated Meckel's diverticulum: presentation modes in adults. *Medicine*. 2018; 97 (38): e12457. DOI: 10.1097/MD.00000000000012457.
- Riccardo G, Bucci V, Carbonaro G, Cerrina A, Ferrero L, Teruzzi E, et al. Heterotopic pancreas in Meckel's diverticulum in a 7-year-old child with intussusception and recurrent gastrointestinal bleeding: case report and literature review focusing on diagnostic controversies. *Afr J Paediatr Surg*. 2014; 11 (4): 354–8. DOI: 10.4103/0189-6725.143172.
- Hansen CC, Søreide K. Systematic review of epidemiology, presentation, and management of Meckel's diverticulum in the 21st century. *Medicine*. 2018; 97 (35): e12154. DOI: 10.1097/MD.00000000000012154.
- Al-Lami A, Alam M, Nagy A, Khan AR. A microscopically calcified Meckel's diverticulum: a histopathological perspective of a case of both gastric and pancreatic mucosae. *BMJ Case Rep*. 2013; bcr2012008289. DOI: 10.1136/bcr-2012-008289.
- Kilius A, Samalavicius NE, Danys D, Zaldokas G, Seinins D. Asymptomatic heterotopic pancreas in Meckel's diverticulum: a case report and review of the literature. *BMJ Case Rep*. 2015; 9 (1): 108. DOI: 10.1186/s13256-015-0576-x.
- Leader H, Polott E, Pinto JM, et al. Perforated Meckel's diverticulum. *J Pediatr Surg Case Rep*. 2022; 80: 102225. DOI: 10.1016/j.jpesc.2022.102225.
- Барская М. А., Варламов А. В., Завьялкин В. А., и др. Диагностика и лечение осложнений дивертикула Меккеля у детей. *Пульс*. 2020; 22 (12): 162–8.
- Pandey S, Fan M, Xu Z, Yan C, Zhu J, Li X. Unusual presentation of obscure Meckel diverticulum treated with robot-assisted diverticulectomy: a case report. *Medicine (Baltimore)*. 2016; 95 (41): e5159. DOI: 10.1097/MD.0000000000005159.
- AlShareef B, Khudari O. Perforated mesenteric Meckel's diverticulum: case report. *Int J Surg Case Rep*. 2021; 79: 271–4. DOI: 10.1016/j.ijscr.2021.01.0275.
- LaFlam TN, Phelps A, Choi WT, et al. Meckel diverticulum presenting as abdominal pain and subsequent bowel perforation. *J Emerg Med*. 2020; 58 (6): e251–e254. DOI: 10.1016/j.jemermed.2020.03.0196.
- Половинкин В. В., Хмелик С. В., Женг Л. Дивертикул Меккеля — причина рецидивирующего желудочно-кишечного

- кровотечения. *Инновационная медицина Кубани*. 2023; 2: 100–2. DOI: 10.35401/2541-9897-2023-26-2-100-102.
17. Тарасенко С. В., Натальский А. А., Песков О. Д., Богомолов А. Ю., Тараканов П. В. Острая тонкокишечная непроходимость, вызванная фитобезоаром дивертикула Меккеля. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2019; 12: 118–21. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-172-12-118-121.
 18. Kabir SA, Raza SA, Kabir SI. Malignant neoplasms of Meckel's diverticulum: an evidence based review. *Ann Med Surg (Lond)*. 2019; 43: 75–81. DOI: 10.1016/j.amsu.2019.05.017.
 19. El Bahesh E, Abell BM, Sugarbaker PH, et al. Peritoneal metastases from malignant degeneration of ectopic gastric epithelium in Meckel's diverticulum: a case report. *Int J Surg Case Rep*. 2019; 61: 305–8. DOI: 10.1016/j.ijscr.2019.07.005.

References

1. Uppal K, Tubbs RS, Matusz P, Shaffer K, Loukas M. Meckel's diverticulum: a review. *Clin Anat*. 2011; 24 (4): 416–22. DOI: 10.1002/ca.21094.
2. Malligiannis Ntalianis D, Maloula RN, Malligiannis Ntalianis K, Giavopoulos P, Solia E, Chrysikos D, et al. Anatomical variations of vascular anatomy in Meckel's diverticulum. *Acta Med Acad*. 2022; 51 (3): 243–48. DOI: 10.5644/ama2006-124.394.
3. Chaudhuri TK, Christie JH. False positive Meckel's diverticulum scan. *Surgery*. 1972; 71: 313.
4. Mwila PK, Odendaal AT, Ahmed OI, Kakudji BK. Congenital ileal-mesenteric fibrous band remnant of the vitelline artery causing small bowel obstruction in an adult female: a case report. *Pan Afr Med J*. 2022; 41: 269. DOI: 10.11604/pamj.2022.41.269.29624.
5. Date K, Yokota T, Maehara N. Laparoscopic treatment of intestinal obstruction due to a vitelline vascular remnant and simultaneous appendicitis: a case report. *Surg Case Rep*. 2018; 4 (1): 105. DOI: 10.1186/s40792-018-0515-3.
6. Parvanescu A, Bruzzi M, Voron T, Tilly C, Zinzindohoué F, Chevallier JM, et al. Complicated Meckel's diverticulum: presentation modes in adults. *Medicine*. 2018; 97 (38): e12457. DOI: 10.1097/MD.00000000000012457.
7. Riccardo G, Bucci V, Carbonaro G, Cerrina A, Ferrero L, Teruzzi E, et al. Heterotopic pancreas in Meckel's diverticulum in a 7-year-old child with intussusception and recurrent gastrointestinal bleeding: case report and literature review focusing on diagnostic controversies. *Afr J Paediatr Surg*. 2014; 11 (4): 354–8. DOI: 10.4103/0189-6725.143172.
8. Hansen CC, Søreide K. Systematic review of epidemiology, presentation, and management of Meckel's diverticulum in the 21st century. *Medicine*. 2018; 97 (35): e12154. DOI: 10.1097/MD.00000000000012154.
9. Al-Lami A, Alam M, Nagy A, Khan AR. A microscopically calcified Meckel's diverticulum: a histopathological perspective of a case of both gastric and pancreatic mucosae. *BMJ Case Rep*. 2013; bcr2012008289. DOI: 10.1136/bcr-2012-008289.
10. Kilius A, Samalavicius NE, Danys D, Zaldokas G, Seinis D. Asymptomatic heterotopic pancreas in Meckel's diverticulum: a case report and review of the literature. *BMJ Case Rep*. 2015; 9 (1): 108. DOI: 10.1186/s13256-015-0576-x.
11. Leader H, Polott E, Pinto JM, et al. Perforated Meckel's diverticulum. *J Pediatr Surg Case Rep*. 2022; 80: 102225. DOI: 10.1016/j.epsc.2022.102225.
12. Barskaya MA, Varlamov AV, Zavyalkin VA, i dr. Diagnostika i lechenie oslozhnenij divertikula Mekkelya u detej. *Pul's*. 2020; 22 (12): 162–8. Russian.
13. Pandey S, Fan M, Xu Z, Yan C, Zhu J, Li X. Unusual presentation of obscure Meckel diverticulum treated with robot-assisted diverticulectomy: a case report. *Medicine (Baltimore)*. 2016; 95 (41): e5159. DOI: 10.1097/MD.0000000000005159.
14. AlShareef B, Khudari O. Perforated mesenteric Meckel's diverticulum: case report. *Int J Surg Case Rep*. 2021; 79: 271–4. DOI: 10.1016/j.ijscr.2021.01.0275.
15. LaFlam TN, Phelps A, Choi WT, et al. Meckel diverticulum presenting as abdominal pain and subsequent bowel perforation. *J Emerg Med*. 2020; 58 (6): e251–e254. DOI: 10.1016/j.jemermed.2020.03.0196.
16. Polovinkin VV, Hmelik SV, Zheng L. Divertikul Mekkelya — prichina recidiviruyushchego zheludochno-kishechnogo krvotecheniya. *Innovacionnaya medicina Kubani*. 2023; 2: 100–2. DOI: 10.35401/2541-9897-2023-26-2-100-102. Russian.
17. Tarasenko SV, Natalskij AA, Peskov OD, Bogomolov AYU, Tarakanov PV. Ostraya tonkokishechnaya neprohodimost', vyzvannaya fitobezoarom divertikula Mekkelya. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya*. 2019; 12: 118–21. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-172-12-118-121. Russian.
18. Kabir SA, Raza SA, Kabir SI. Malignant neoplasms of Meckel's diverticulum: an evidence based review. *Ann Med Surg (Lond)*. 2019; 43: 75–81. DOI: 10.1016/j.amsu.2019.05.017.
19. El Bahesh E, Abell BM, Sugarbaker PH, et al. Peritoneal metastases from malignant degeneration of ectopic gastric epithelium in Meckel's diverticulum: a case report. *Int J Surg Case Rep*. 2019; 61: 305–8. DOI: 10.1016/j.ijscr.2019.07.005.

ВЛИЯНИЕ НОКАУТА ГЕНА β -АРРЕСТИНА 2 НА ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ СТАТУС МЫШЕЙ В УСЛОВИЯХ СТРЕПТОЗОТОЦИН-ВЫЗВАННОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА

А. А. Волкова^{1,2} ✉, А. С. Гладкова²

¹ Институт физиологии, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

² Биологический факультет, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия

Сахарный диабет (СД) сопровождается системным воспалением и нейровоспалением, однако роль β -аррестина 2 в этих процессах изучена недостаточно. Цель экспериментального исследования — изучить влияние дефицита β -аррестина 2 на провоспалительный статус мышей в условиях стрептозоточин-вызванного сахарного диабета. Самцов мышей линии C57BL/6J и мышей с глобальным нокаутом гена β -аррестина 2 (*Arb2*^{-/-}) разделили на четыре группы: животные дикого типа без диабета (WT, *n* = 8) и с диабетом (WTd, *n* = 8), нокаутные животные без диабета (KO, *n* = 8) и с диабетом (KOd, *n* = 9). Показано, что нокаут гена *Arb2* замедляет развитие гипергликемии: к 39-му дню эксперимента уровень глюкозы у животных WTd составлял $22,3 \pm 8,09$ ммоль/л, у KOd — $14,37 \pm 7,65$ ммоль/л ($p < 0,05$). У мышей *Arb2*^{-/-} был повышен системный воспалительный фон: базальная доля нейтрофилов в крови у KO животных была в 2,6 раза выше, чем у WT ($p < 0,0001$). С 18-го дня эксперимента у KOd мышей доля нейтрофилов была значимо выше по сравнению с KO и WTd ($p < 0,05$). Дефицит β -аррестина 2 сопровождался усилением экспрессии мРНК генов провоспалительных цитокинов и рецепторов, активируемых протеазами. Наиболее выраженные изменения включали статистически значимое повышение экспрессии мРНК *Il6* в гиппокампе у KO по сравнению с WT в 2,9 раза ($p < 0,01$), повышение экспрессии *Tnf* в коре (4,3 раза для KO/WT и 2,0 раза для KOd/WTd) и гиппокампе (3,2 и 2,3 раза соответственно) у *Arb2*^{-/-} животных по сравнению с соответствующими группами дикого типа ($p < 0,05$), а также увеличение экспрессии *Par1* и *Par4* в коре и гиппокампе у *Arb2*^{-/-} мышей от 2,4 до 7,3 раза ($p < 0,01$). Полученные данные указывают на противовоспалительную роль β -аррестина 2 в центральной нервной системе и его участие в регуляции воспаления при СД.

Ключевые слова: диабет, β -аррестин 2, PAR, нокаут, воспаление

Финансирование: работа поддержана грантом РФФИ №24-75-00164 «Роль бета-аррестина в развитии ишемии мозга на фоне сахарного диабета у мышей».

Вклад авторов: А. А. Волкова — идея работы и планирование эксперимента, сбор и обработка данных, написание и редактирование статьи; А. С. Гладкова — сбор и обработка данных, написание и редактирование статьи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н. И. Пирогова (протокол № 23/2021 от 13 декабря 2021 г.). Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации.

✉ **Для корреспонденции:** Анна Александровна Волкова
ул. Островитянова, д. 1, г. Москва, 117997; volkova_aa4@rsmu.ru

Статья получена: 14.04.2026 **Статья принята к печати:** 30.04.2026 **Опубликована онлайн:** 27.06.2026

DOI: 10.24075/vrgmu.2026.035

Авторские права: © 2026 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/>).

β -ARRESTIN 2 KNOCKOUT MODULATES INFLAMMATORY RESPONSES IN A MOUSE MODEL OF STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES MELLITUS

Volkova AA^{1,2} ✉, Gladkova AS²

¹ Institute of Physiology, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

² Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Diabetes mellitus (DM) is associated with systemic inflammation and neuroinflammation, but the role of β -arrestin 2 in these processes remains poorly understood. The experimental study aimed to assess the effect of β -arrestin 2 deficiency on the pro-inflammatory state of mice with streptozotocin-induced diabetes. Male C57BL/6J mice and mice with the global β -arrestin 2 gene knockout (*Arb2*^{-/-}) were divided into four groups: non-diabetic wild type mice (WT, *n* = 8), diabetic wild-type mice (WTd, *n* = 8), non-diabetic knockout mice (KO, *n* = 8) and diabetic knockout mice (KOd, *n* = 9). *Arb2* knockout delayed the development of hyperglycemia: on day 39, blood glucose levels were significantly higher in WTd mice than in KOd mice (22.3 ± 8.09 vs. 14.37 ± 7.65 mmol/L, $p < 0.05$). *Arb2*^{-/-} mice also showed increased systemic inflammatory markers: the baseline percentage of neutrophils in KO mice was 2.6-fold higher than in WT mice ($p < 0.0001$). Starting from day 18 KOd mice had significantly higher neutrophil counts compared to KO and WTd ($p < 0.05$). β -Arrestin 2 deficiency was associated with increased mRNA expression of the genes encoding pro-inflammatory cytokines and protease-activated receptors. The most pronounced changes included a significant increased *Il6* mRNA expression in the hippocampus of KO compared to WT (2.9-fold, $p < 0.01$), increased *Tnf* expression in the cerebral cortex (4.3-fold for KO/WT and 2.0-fold for KOd/WTd) and the hippocampus (3.2- and 2.3-fold, respectively) of *Arb2*^{-/-} animals compared to appropriate wild type groups ($p < 0.05$), as well as the increased *Par1* and *Par4* expression in the cerebral cortex and hippocampus of *Arb2*^{-/-} mice (2.4–7.3-fold, $p < 0.01$). These findings suggest that β -arrestin 2 deficiency is associated with a pro-inflammatory phenotype in the CNS and may contribute to inflammation dysregulation in DM.

Keywords: diabetes, β -arrestin 2, PAR, knockout, inflammation

Funding: the study was supported by the RSF grant No. 24-75-00164 “Role of beta-arrestin in cerebral ischemia against the background of diabetes mellitus in mice”.

Author contribution: Volkova AA — study concept and planning the experiment, data acquisition and processing, manuscript writing and editing; Gladkova AS — data acquisition and processing, manuscript writing and editing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Pirogov Russian National Research Medical University (protocol No. 23/2021 dated December 13, 2021). All the procedures conducted during the study that involved animals were compliant with the ethical standards approved by legal acts of the Russian Federation, principles of Basel Declaration.

✉ **Correspondence should be addressed:** Anna A. Volkova
Ostrovityanova, 1, Moscow, 117997; volkova_aa4@rsmu.ru

Received: 14.04.2026 **Accepted:** 30.04.2026 **Published online:** 27.06.2026

DOI: 10.24075/brsmu.2026.035

Copyright: © 2026 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/>).

Сахарный диабет (СД) — одна из ведущих неинфекционных патологий, распространенность которой продолжает увеличиваться во всем мире [1, 2]. СД ассоциирован с высоким риском сердечно-сосудистых осложнений, включая нарушения мозгового кровообращения, а также с повышенной вероятностью развития когнитивных нарушений и нейродегенеративных заболеваний [3, 4]. Одними из факторов, связывающих СД с развитием коморбидных патологий, являются системное воспаление и нейровоспаление, сопровождающие это заболевание [5, 6].

Одним из механизмов, связывающих хроническую гипергликемию с воспалительным ответом, является неферментативное гликирование белков и других молекул. При избытке глюкозы ее карбонильная группа вступает в реакцию со свободными аминогруппами, что приводит к образованию конечных продуктов гликирования (AGE) [7]. Взаимодействие AGE с рецепторами конечных продуктов гликирования (RAGE, receptor for advanced glycation end products) активирует сигнальные пути MAPK/ERK (митоген-активируемая протеинкиназа / киназа, регулируемая внеклеточным сигналом), TGF β (трансформирующий фактор роста β), JNK (с-Jun N-концевая киназа) и NF- κ B (ядерный фактор κ B), что сопровождается высвобождением провоспалительных медиаторов, включая интерлейкин-1 (IL1), интерлейкин-6 (IL6) и фактор некроза опухоли- α (TNF α) [8]. Кроме того, AGE/RAGE-взаимодействие и аутоокисление глюкозы усиливают образование активных форм кислорода (АФК), что дополнительно поддерживает воспалительный ответ при СД [9, 10]. Метаболические нарушения при СД также способствуют эндотелиальной дисфункции. В частности, инсулинорезистентность сопровождается снижением активности PI3K/Akt-сигнального пути (фосфоинозитид-3-киназа / протеинкиназа B) и компенсаторным усилением MAPK/ERK-зависимой сигнализации, что приводит к снижению продукции оксида азота (NO) и повышению образования эндотелина-1 в эндотелиальных клетках [11, 12]. На фоне эндотелиальной дисфункции, активации астроцитов и микроглии может нарушаться целостность гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), что способствует развитию нейровоспаления и нейродегенеративных изменений [13, 14].

Понимание молекулярных механизмов, связывающих диабет и воспаление, способствует поиску новых терапевтических стратегий, направленных на коррекцию воспалительных процессов при СД и профилактику неврологических осложнений. Одним из перспективных направлений является изучение роли β -аррестинов — многофункциональных белков, участвующих в регуляции сигнальных путей, связанных с метаболизмом глюкозы и воспалительными процессами [15].

β -Аррестин 2 впервые был описан из-за его ключевой роли в десенсibilизации рецепторов, связанных с G-белками (GPCR) [16]. Однако, помимо регуляции GPCR, β -аррестин 2 выполняет важную адаптерную функцию, участвуя в передаче сигналов с помощью каскадов как связанных (активация ERK, JNK и p38-киназ) [17], так и не связанных с G-белками (Wnt, Notch, TGF β , Hedgehog) [18]. β -Аррестин 2 необходим для нормальной секреции инсулина β -клетками поджелудочной железы [19]. Кроме того, он ингибирует проведение сигнала рецепторов глюкоагона и способствует поддержанию эугликемии [15]. Однако, по литературным данным, β -аррестин 2 оказывает разнонаправленное влияние на воспалительный процесс, выступая как про-, так и противовоспалительным фактором.

При воспалении у мышей с глобальным нокаутом гена β -аррестина 2 (*Arb2*, arrestin beta 2) была усилена экспрессия провоспалительных маркеров IL6, IL1 β , TNF α и ингибитора киназы β NF- κ B (IKK β) [20]. Однако в фибробластах мыши экспрессия β -аррестина 2 необходима для активации NF- κ B через рецептор лизофосфатидной кислоты (LPA) [21]. β -Аррестин 2 стимулирует пролиферацию и миграцию гладкомышечных клеток (ГМК) из медиа в интиму, увеличивая размер атеросклеротического поражения [22].

Таким образом, цель данной работы — оценить провоспалительный статус мышей нокаутных по гену β -аррестина 2 на фоне длительного стрептозотоцин-вызванного диабета.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования

Эксперименты проводили на самцах мышей линии C57BL/6J и мышей с глобальным нокаутом гена *Arb2* (*Arb2*^{-/-}), полученных на генетическом фоне C57BL/6J, массой 15–25 г в возрасте 8 недель. Животных содержали в стандартных условиях вивария при температуре 22 °C, 12-часовом световом режиме и свободном доступе к пище и воде. Используемая линия *Arb2*^{-/-} ранее была верифицирована методами ПЦР и вестерн-блот анализа [23].

Моделирование СД

Животные были случайным образом разделены на четыре группы. Контрольные группы без диабета: животные дикого типа (WT) и с нокаутом по гену *Arb2* (KO), и опытные группы с диабетом: также дикого типа (WTd) и с нокаутом *Arb2* (KOd). Для моделирования СД животным внутрибрюшинно (в/б) вводили стрептозотоцин (STZ) в течение 5 дней подряд. За 4 ч до инъекции доступ животных к корму прекращали. Затем опытным группам WTd и KOd в/б вводили STZ (Sigma Aldrich Co., США), растворенный в свежеприготовленном 50 мМ натрий-цитратном буфере (pH 4,5), в дозе 55 мг/кг. Контрольным группам WT и KO в/б вводили эквивалентный объем цитратного буфера.

Животным измеряли уровень глюкозы с помощью глюкометра Diacont Classic 2598 (Тайвань) на 1, 5, 10, 18, 25, 32 и 39 дне от начала введения STZ. В те же дни проводили мониторинг веса животных. Каплю крови для анализа отбирали пункцией боковой хвостовой вены. Перед измерением уровня глюкозы прекращали доступ к корму на 4 ч.

Оценка уровня системного воспаления

Для оценки уровня системного воспаления у животных определяли соотношение нейтрофилов в мазках крови из боковой хвостовой вены. Взятие мазка проводили в те же дни, что и измерение уровня глюкозы. Мазки фиксировали метанолом (FisherChemical, Германия), окрашивали красителем Гимзы («ПанЭко», Россия) в течение 10–15 мин и анализировали при увеличении 400 \times . Перед микроскопическим анализом препараты кодировали; исследователь, проводивший подсчет лейкоцитарной формулы, не имел информации о принадлежности образца к экспериментальной группе. Подсчет клеток проводили вручную с использованием программы WBC Counter (Kazuyoshi Sasaoka, Япония) до достижения общего числа лейкоцитов, равного 100, после чего рассчитывали

Таблица. Праймеры, использованные для ОТ-ПЦР

Ген	Прямой праймер (5'-3')	Обратный праймер (5'-3')
<i>Il6</i>	AGGACCAAGACCATCCAATTCA	CGCACTAGGTTTGCCGAGTA
<i>Par1</i>	GTCGCTTCCACGAAAGTCCCT	CACAGACAGAACACGGGACA
<i>Par4</i>	CAGCCCTAGACACCCTGATTT	AGACACCCATCATCCTTTGGC
<i>Il1b</i>	GCCTGTGTTTTCTCCTTGC	GCTGCCTAATGTCCCCTTGA
<i>Tnf</i>	ACCTGGCCTCTACTCTTGT	GATTACAGTCACGGCTCCCG
<i>Actb</i>	ACTCTGTGTGGATTGGTGGC	GAAAGGGTGAAAACGCAGCTC

процент нейтрофилов. Референсными значениями для взрослых мышей линии C57BL/6J считали следующие: сегментоядерные нейтрофилы — 8–20%, лимфоциты — 76–91% [24]. Для анализа динамики нейтрофильного звена долю нейтрофилов дополнительно нормировали на индивидуальное значение, полученное у того же животного на 1-й день эксперимента.

Измерение уровня экспрессии мРНК провоспалительных цитокинов и рецепторов PAR

Уровень экспрессии генов провоспалительных цитокинов (*Il6*, *Il1b*, *Tnf*) и рецепторов, активируемых протеазами 1 и 4 (*Par1*, *Par4*), оценивали с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в режиме реального времени (ОТ-ПЦР).

Образцы гиппокампа и коры правого полушария гомогенизировали в реагенте ExtractRNA («Евроген», Россия), тотальную РНК выделяли согласно протоколу производителя. Концентрацию и чистоту РНК оценивали с помощью спектрофотометра Nanodrop (Thermo Fisher Scientific, США); для дальнейшего анализа использовали образцы с $A260/280 = 1,8–2,0$ и $A260/230 = 1,8–2,2$. Для получения достаточного количества РНК часть образцов коры и гиппокампа объединяли в пулы.

После обработки ДНКазой I (Thermo Fisher Scientific, США) проводили синтез кДНК с использованием набора MMLV RT («Евроген», Россия). В реакции обратной транскрипции использовали смесь праймеров Random(dN)10 и Oligo(dT)15.

ПЦР в реальном времени проводили в амплификаторе CFX Connect Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, США) с использованием SYBR Green I (смесь 5x qPCRmix-HS SYBR; «Евроген», Россия). Специфичность амплификации контролировали по кривым плавления; в качестве отрицательного контроля использовали реакцию без матрицы. Последовательности праймеров представлены в таблице.

Эффективность всех пар праймеров составляла 95–105%. Уровень экспрессии рассчитывали методом $\Delta\Delta Cq$ с нормализацией на референсный ген β -актина (*Actb*). Все образцы анализировали в трех параллельных повторах.

Статистический анализ

Статистическую обработку результатов проводили в программе GraphPad Prism версии 8.0.1 (GraphPad Software Inc., США). Нормальность распределения полученных данных определяли с помощью критерия Шапиро–Уилка, выбросы — с помощью теста ROUT при $Q = 1\%$. Для оценки статистической значимости использовали непарный t -тест или двухфакторный дисперсионный анализ (two-way ANOVA) с апостериорным тестом Тьюки; при неравных размерах групп применяли поправку Тьюки–Крамера,

автоматически реализованную в GraphPad Prism. В рамках post-hoc-анализа оценивали влияние как диабета внутри каждого генотипа (WT/WTd и KO/KOd), так и генотипа в соответствующих условиях: WT/KO в контроле и WTd/KOd на фоне диабета. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. На рисунках отмечены только статистически значимые различия.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Влияние нокаута гена *Arb2* на формирование признаков диабета

Ключевым повреждающим фактором, определяющим развитие диабетических осложнений у экспериментальных животных, является хроническая гипергликемия. Используемый нами протокол введения STZ приводил к стойкому повышению уровня глюкозы у животных дикого типа на 10-й день эксперимента — концентрация глюкозы в крови составляла $17,06 \pm 4,41$ ммоль/л, что соответствует значениям тяжелой гипергликемии. Концентрация глюкозы в крови мышей из группы KOd статистически не отличалась от таковой у группы KO вплоть до 25 дня эксперимента. На 25-й день концентрация глюкозы в крови у мышей KOd достигала значения $12,93 \pm 5,93$ ммоль/л, что соответствует легкой форме гипергликемии, а тяжелая гипергликемия ($17,28 \pm 5,75$ ммоль/л) развивалась только на 32-й день. К концу эксперимента на 39-й день после первой инъекции STZ уровень глюкозы у животных WTd ($22,3 \pm 8,09$ ммоль/л) был значимо выше, чем у животных KOd ($14,37 \pm 7,65$ ммоль/л) (рис. 1).

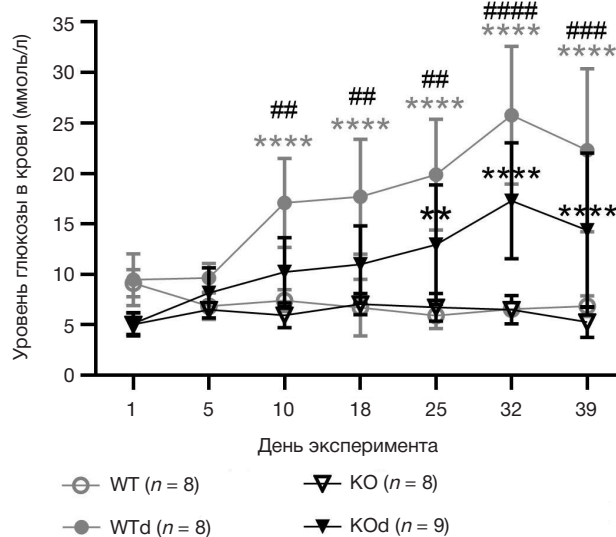


Рис. 1. Изменение уровня глюкозы в крови у мышей в контроле и при диабете. Two-way ANOVA, тест Тьюки. ** — $p < 0,01$; **** — $p < 0,0001$ (сравнение WT/WTd и KO/KOd); ## — $p < 0,01$; ### — $p < 0,001$; #### — $p < 0,0001$ (сравнение WTd/KOd)

Наряду с гипергликемией, другим симптомом, характерным для СД1, является снижение массы тела, поэтому данный параметр оценивали регулярно наряду с изменением концентрации глюкозы. В нашем исследовании во всех группах животных наблюдалось увеличение массы тела при сравнении 1 и 39 дней эксперимента. У животных WT и WTd увеличение составило $3,23 \pm 0,83$ г и $0,84 \pm 1,54$ г, у KO и KOd — $7,00 \pm 0,79$ г и $1,72 \pm 1,46$ г соответственно. Таким образом, диабет статистически значимо снижает прирост веса у мышей как дикого типа, так и с нокаутом гена *Arb2*. У нокаутных мышей при этом прирост веса на протяжении всего эксперимента как в отсутствие диабета, так и на его фоне был более чем в 2 раза выше в сравнении с диким типом (рис. 2). Также следует отметить наличие статистически значимых различий между животными дикого типа и нокаутными уже в начале эксперимента. На 1-й день наблюдения масса тела мышей дикого типа составляла $21,88 \pm 1,37$ г, тогда как у *Arb2*^{-/-} животных — $18,81 \pm 3,37$ г.

Влияние нокаута гена *Arb2* на уровень системного воспаления на фоне диабета

В качестве показателя системного воспаления мы подсчитывали долю нейтрофилов в мазках периферической крови с использованием окрашивания по Романовскому–Гимзе. Не было выявлено статистически значимых различий в уровне нейтрофилов между группами WT и WTd как на протяжении всего эксперимента, так и при сравнении начальных и конечных значений. В то же время у животных из группы KOd наблюдалось значимое повышение доли нейтрофилов на 18-й день эксперимента при сравнении со значениями первого дня в той же группе. Кроме того, у животных KOd уровень нейтрофилов был значимо выше по сравнению с животными KO (рис. 3А). Однако стоит отметить, что в начале эксперимента фоновое значение доли нейтрофилов в крови у мышей с нокаутом было в 2,6 раза выше, чем у животных дикого типа: $40,8 \pm 10,3\%$ против $15,6 \pm 5,3\%$ соответственно (рис. 3Б).

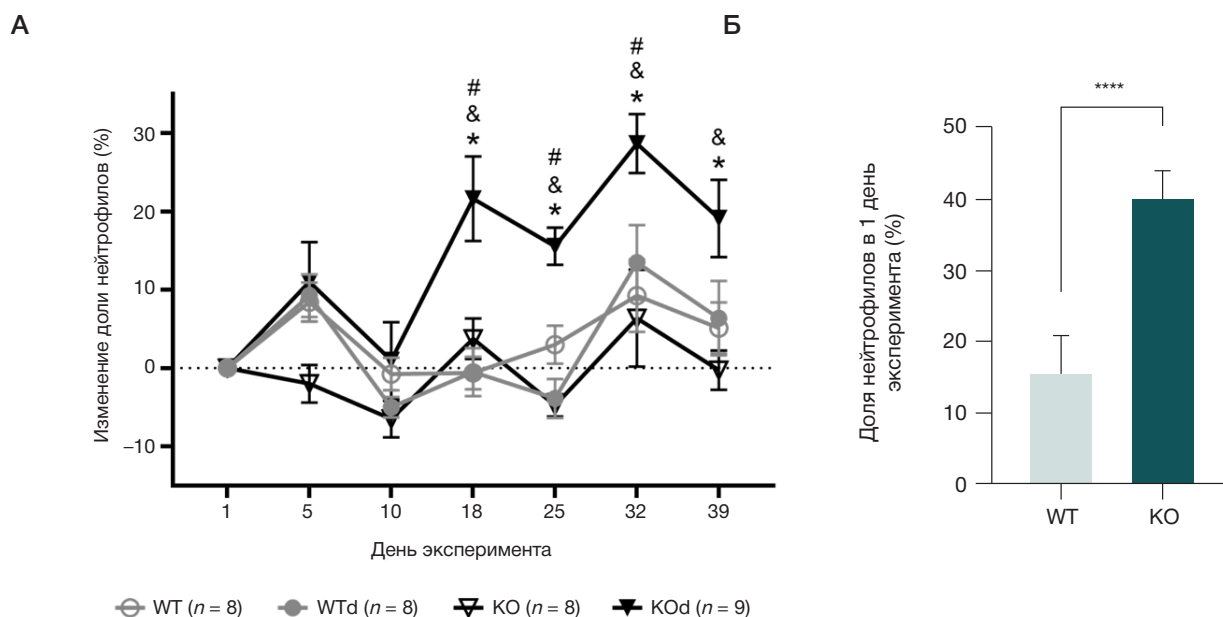


Рис. 3. Оценка уровня нейтрофилов у мышей на фоне диабета. **А.** Изменение доли нейтрофилов (данные нормированы на значения в первый день эксперимента внутри каждой группы) в крови у мышей в контроле и при диабете, индуцированном многократными низкими дозами STZ. **Б.** Доля нейтрофилов в крови у мышей дикого типа и с нокаутом гена *Arb2* в первый день эксперимента. Two-way ANOVA, тест Тьюки. * — $p < 0,05$ (сравнение KO/KOd); & — $p < 0,05$ (отличие в группе KOd по сравнению с первым днем в этой же группе); # — $p < 0,05$ (сравнение WTd/KOd). Данные представлены в виде среднего \pm стандартное отклонение. Непарный *t*-тест. **** — $p < 0,0001$

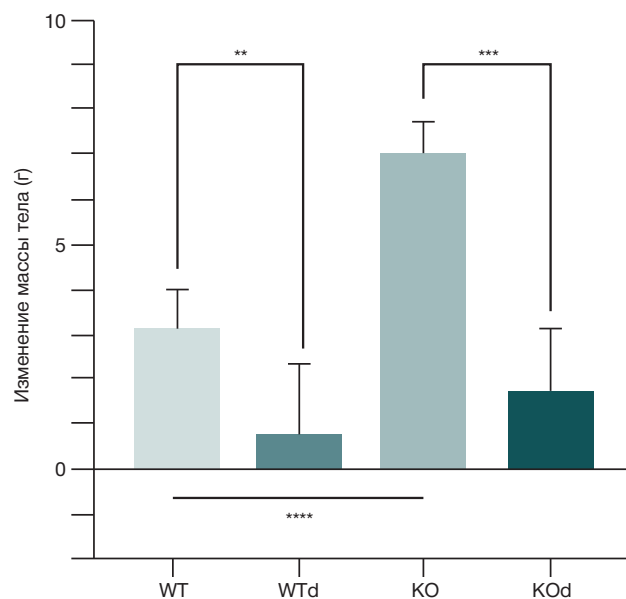


Рис. 2. Изменение массы тела животных исследуемых групп (разность между последним и первым днями эксперимента). Данные представлены в виде среднего \pm стандартное отклонение. Two-way ANOVA, тест Тьюки. ** — $p < 0,01$; **** — $p < 0,0001$

Влияние нокаута гена *Arb2* на экспрессию мРНК генов *Il6*, *Il1b* и *Tnf* в коре и гиппокампе на фоне диабета

Для оценки уровня экспрессии генов провоспалительных цитокинов IL6, IL1 β и TNF α мы использовали метод ПЦР в реальном времени. Между группами WT и WTd статистически значимых различий в уровне экспрессии мРНК исследуемых генов в мозге не наблюдалось. В то же время у мышей KOd на фоне диабета была значимо повышена экспрессия мРНК генов *Il6* и *Il1b* в коре мозга по сравнению с группой KO. Кроме того, уровень экспрессии мРНК генов *Il6*, *Il1b* и *Tnf* в гиппокампе и *Tnf* в коре был значимо выше как у KO мышей, по сравнению с группой WT, так и у KOd по сравнению с WTd (рис. 4).

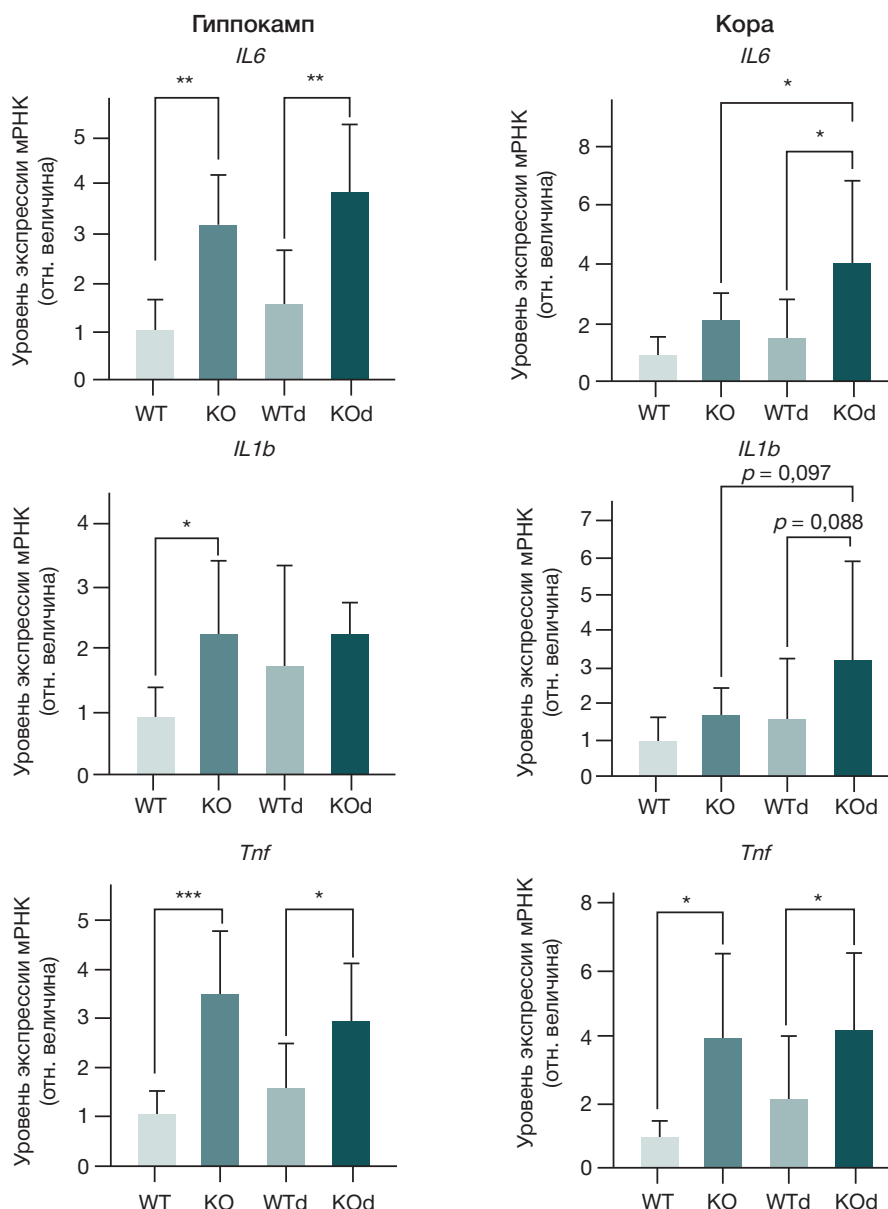


Рис. 4. Экспрессия мРНК генов *Il6*, *Il1b* и *Tnf* в гиппокампе и коре у мышей исследуемых групп. Данные представлены в виде значений, нормированных на уровень экспрессии референсного гена β -актина. WT ($n = 5-8$); WTd ($n = 5-8$); KO ($n = 5-8$); KOd ($n = 5-8$). Данные представлены в виде среднего \pm стандартное отклонение. Two-way ANOVA, тест Тьюки. * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$

Влияние нокаута *Arrb2* на экспрессию мРНК генов *PAR1* и *PAR4* в коре и гиппокампе на фоне диабета

Рецепторы, активируемые протеазами (PAR), играют важную роль в регуляции воспаления. Уровень экспрессии мРНК генов *Par1* и *Par4* в коре и гиппокампе был значимо повышен у мышей с нокаутом *Arrb2* по сравнению с диким типом как в норме, так и на фоне диабета. Кроме того, у группы KOd было отмечено статистически значимое увеличение экспрессии мРНК *Par4* в гиппокампе по сравнению с группой KO (рис. 5).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Динамика повышения уровня глюкозы в крови у животных дикого типа на фоне введения STZ в нашем исследовании соответствовала описанной в литературе при использовании стандартного протокола [25]. Неожиданным наблюдением стало замедленное развитие гипергликемии у мышей с нокаутом гена *Arrb2*, у которых тяжелая форма

диабета развивалась лишь к 32-му дню, а конечный уровень глюкозы был значимо ниже, чем у мышей дикого типа (рис. 1). Этот результат, казалось бы, противоречит известной роли β -аррестина 2 как позитивного регулятора глюкозо-зависимой секреции инсулина: в физиологических условиях данный белок участвует в активации кальмодулин-зависимой протеинкиназы II (CaMKII) в β -клетках и поддержании их нормальной функции [19, 26]. Однако в модели STZ-индуцированного диабета ключевым фактором прогрессирования гипергликемии является не столько функциональная недостаточность секреции инсулина, сколько повреждение и гибель β -клеток. STZ селективно захватывается β -клетками через низкоаффинный транспортер глюкозы GLUT2 и вызывает нитрозативный и окислительный стресс, активацию MAPK-зависимых сигнальных каскадов и повреждение ДНК [27]. Поэтому мы предполагаем, что протективный эффект нокаута *Arrb2* связан не с улучшением функционального состояния β -клеток, а с повышением их устойчивости к цитотоксическому действию STZ.

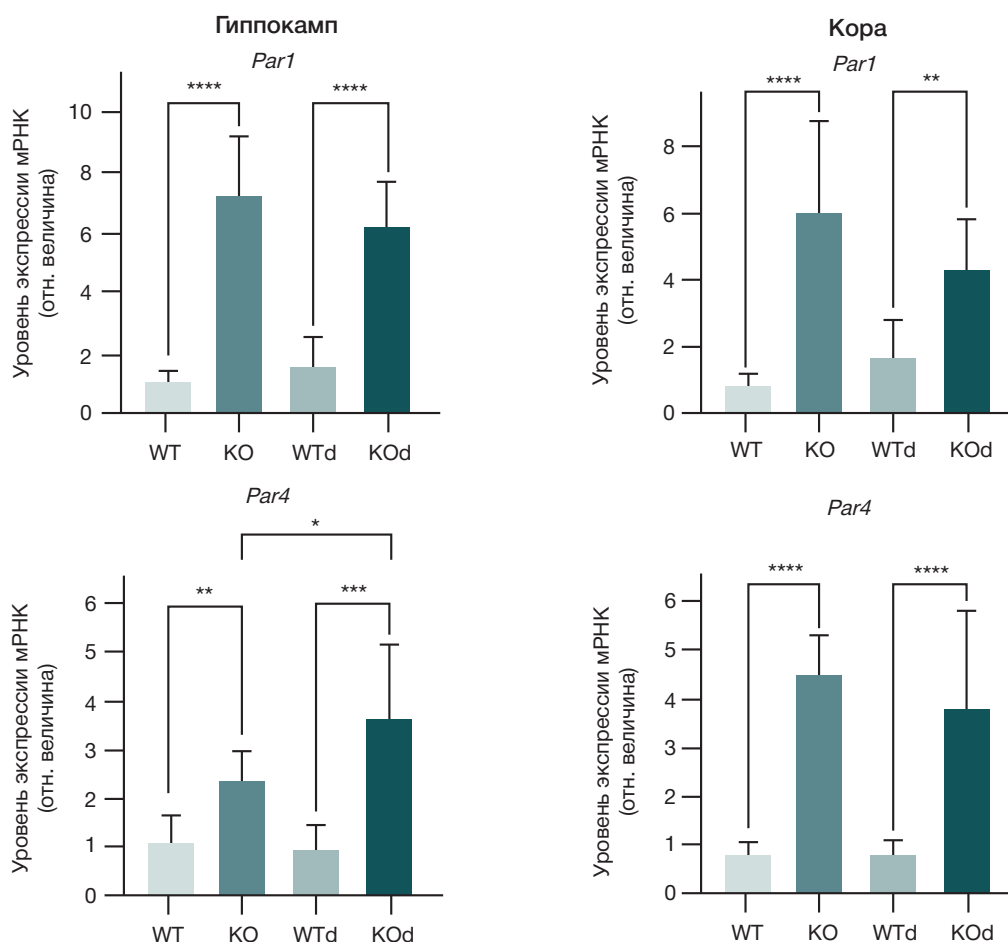


Рис. 5. Экспрессия мРНК генов *Par1* и *Par4* в гиппокампе и коре у мышей исследуемых групп. Данные представлены в виде значений, нормированных на уровень экспрессии референсного гена β -актина. WT ($n = 5-8$); WTd ($n = 5-8$); KO ($n = 5-8$); KOd ($n = 5-8$). Данные представлены в виде среднего \pm стандартное отклонение. Two-way ANOVA, тест Тьюки. * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,0001$

Важную роль в замедленном развитии гипергликемии у нокаутных животных может играть модуляция окислительного стресса. Показано, что у *Arb2*^{-/-} мышей развитие фиброза печени, вызванного CCl₄, сопровождалось менее выраженным воспалением и повреждением клеток, что авторы связывали со снижением уровня NADPH-оксидазы 4 (NOX4) [28]. NOX4 является одним из источников АФК в β -клетках, а ее ингибирование способствует их выживанию при диабете [29, 30]. Таким образом, отсутствие β -аррестина 2 могло снижать выраженность NOX4-зависимого окислительного повреждения, индуцированного STZ.

Другим возможным механизмом замедленного развития гипергликемии у нокаутных мышей является ослабление провоспалительной сигнализации в островках поджелудочной железы. Известно, что β -аррестин 2 образует комплекс с р38 MAPK и потенцирует ее активацию [31]. Этот сигнальный каскад также активируется под воздействием провоспалительных цитокинов и стимулирует разрушение β -клеток и развитие гипергликемии [32]. У мышей с нокаутом гена *Mkk3* (киназы MKK3, активирующей р38 MAPK) наблюдалось уменьшение цитотоксических эффектов STZ за счет снижения инфильтрации β -клеток лейкоцитами и выработки провоспалительных цитокинов [33]. Следовательно, у мышей *Arb2*^{-/-} может быть нарушена активация каскада р38 MAPK в ответ на повреждение, что способствует сохранению функционально активных β -клеток.

Несмотря на то что в нашем исследовании у нокаутных мышей наблюдался повышенный уровень

системного воспаления в плазме крови, локальные эффекты в микроокружении островков Лангерганса могут отличаться. Возможно, снижение способности иммунных клеток к инфильтрации и активации (опосредованное механизмами р38 MAPK и NOX4) перевешивает системный провоспалительный фон. Кроме того, β -аррестин 2 участвует в хемотаксисе нейтрофилов через интернализацию рецепторов хемокинов [34], и его отсутствие могло нарушить рекрутирование иммунных клеток в островки.

Таким образом, замедленное развитие гипергликемии у мышей с *Arb2*^{-/-} на модели STZ-диабета, вероятно, является следствием комбинации факторов: снижения окислительного стресса (через NOX4), ослабления р38 MAPK-зависимого воспаления и нарушения рекрутирования иммунных клеток к островкам. Это позволяет предположить, что β -аррестин 2 в условиях токсического стресса способствует гибели β -клеток, а его отсутствие оказывает защитное действие, несмотря на возможные нарушения в базальной секреции инсулина, описанные в физиологических условиях.

В нашем исследовании наблюдалось увеличение массы тела мышей во всех группах, что, вероятно, связано с продолжающимся ростом животных в период с 2-го по 3-й месяц жизни. Диабет статистически значимо снижал прирост массы у мышей обоих генотипов по сравнению с соответствующими контрольными группами (рис. 2), что согласуется с классическими представлениями о метаболических нарушениях при СД1. Следует отметить,

что после введения STZ в литературе описаны различные варианты динамики массы тела — от отсутствия изменений до увеличения или снижения [25].

Более выраженный прирост массы тела у нокаутных мышей следует интерпретировать с учетом исходных различий между группами — на начало эксперимента *Arb2*^{-/-} животные имели статистически значимо меньшую массу тела по сравнению с мышами дикого типа. Кроме того, β -аррестин 2 является негативным регулятором сигнального пути β 3-адренорецепторов (β 3-AR) в адипоцитах, основные функции которого — стимуляция липолиза, термогенеза и усиление потребления кислорода митохондриями. Нокаут β -аррестина 2 приводит к пролонгированию β 3-AR сигналинга и стимуляции образования бурой жировой ткани, что предположительно способствует снижению массы жировой ткани [35].

Более выраженный прирост массы тела у *Arb2*^{-/-} мышей, вероятно, обусловлен совокупностью факторов. Во-первых, нокаутные животные исходно имели меньшую массу, что могло способствовать более высокому относительному приросту в фазе активного возрастного роста, характерной для мышей линии C57BL/6J в возрасте 5–12 недель [36, 37]. Во-вторых, развитие тяжелой гипергликемии у *Arb2*^{-/-} животных было замедленным, что, вероятно, сопровождалось менее выраженными катаболическими эффектами диабета и способствовало лучшему сохранению массы тела. Таким образом, различия в динамике массы могут отражать не прямое влияние отсутствия β -аррестина 2 на процессы роста, а опосредованное влияние на метаболические процессы.

В нашем исследовании STZ-вызванный диабет не оказал значимого влияния на уровень нейтрофилов у мышей дикого типа (рис. 3А). Отсутствие выраженного нейтрофильного ответа у мышей WTD может быть связано с тем, что используемая модель, несмотря на развитие тяжелой гипергликемии, не сопровождается столь выраженным системным воспалительным ответом, как модели с высокожировой диетой или аутоиммунные модели СД1. Кроме того, сроки наблюдения (39 дней) могут быть недостаточными для развития хронического системного воспаления, регистрируемого по изменению лейкоцитарной формулы.

В отличие от эффекта диабета, фактор генотипа оказал существенное влияние на уровень нейтрофилов. Уже на первый день эксперимента мыши *Arb2*^{-/-} имели значимо более высокую базальную долю нейтрофилов по сравнению с диким типом (рис. 3Б), а на фоне диабета у группы KOd наблюдалось дополнительное повышение этого показателя по сравнению с КО (рис. 3А). Полученные данные согласуются с известной ролью β -аррестина 2 как негативного регулятора системных воспалительных реакций. Показано, что β -аррестин 2 необходим для интернализации рецепторов хемокинов CXCR1 и CXCR2. У мышей *Arb2*^{-/-} нарушение этого механизма приводит к усилению хемотаксиса нейтрофилов в очаги воспаления и повышению продукции IL8, IL6 и TNF α [38, 39]. Таким образом, отсутствие β -аррестина 2 создает провоспалительный фон, который в условиях диабета может дополнительно усиливаться.

Для понимания наших результатов важно отметить, что в литературе описаны разнонаправленные изменения нейтрофилов при диабете. При СД может повышаться продукция провоспалительных цитокинов нейтрофилами [40] и усиливаться рекрутирование лейкоцитов в очаг воспаления [41], однако в других условиях, включая ранние стадии СД1 [42] или при снижении HbA1c $\geq 1,5\%$ на

фоне терапии с помощью сахароснижающих препаратов, количество циркулирующих лейкоцитов и нейтрофилов может снижаться [43]. Эти данные подчеркивают сложность регуляции нейтрофильного звена при диабете и важность учета как модели заболевания, так и генетических факторов при интерпретации результатов.

Анализ экспрессии генов провоспалительных маркеров в тканях мозга выявил значимое повышение уровней мРНК генов *Il6*, *Il1b* и *Tnf* в коре и гиппокампе у мышей с нокаутом гена *Arb2* как в контроле, так и на фоне диабета (рис. 4). У животных дикого типа индукция диабета не приводила к статистически значимым изменениям экспрессии мРНК исследуемых цитокинов. Полученные данные свидетельствуют о том, что ключевым фактором, определяющим провоспалительный статус в исследованных отделах мозга, является генотип, а отсутствие β -аррестина 2 создает базальный провоспалительный фон. Сходная закономерность наблюдалась и для рецепторов, активируемых протеазами (PAR). Экспрессия мРНК генов *Par1* и *Par4* была значимо повышена в коре и гиппокампе у мышей *Arb2*^{-/-} по сравнению с диким типом как в контроле, так и на фоне диабета, с дополнительным увеличением экспрессии *Par4* в гиппокампе в группе KOd по сравнению с КО (рис. 5).

Полученные результаты согласуются с известной ролью β -аррестина 2 как негативного регулятора воспалительных реакций в ЦНС. Согласно литературным данным, β -аррестин 2 является важным негативным регулятором TLR4 (toll-подобный рецептор 4)-опосредованной продукции NLRP3 (белок семейства NOD-подобных рецепторов с пириновым доменом 3) [44]. Кроме того, β -аррестин 2 может напрямую связываться с TRAF6 и снижать фосфорилирование NF- κ B посредством ингибирования олигомеризации и убиквитинирования TRAF6 (фактор, ассоциированный с рецептором фактора некроза опухоли 6), что дополнительно ингибирует активацию пути NF- κ B [45]. β -Аррестин 2 подавляет также активацию астроцитов через G-белок независимый сигналинг дофаминовых рецепторов D2 и нарушает сборку NLRP3-инфламмосомы [46]. Показано, что у мышей *Arb2*^{-/-} по сравнению с диким типом стимуляция LPS (липополисахариды) вызывает более выраженную гибель нейронов и активацию микроглии, сопровождающуюся повышением провоспалительных маркеров IL6, IL1 β , TNF α и Nos2 и снижением противовоспалительных маркеров Arg1, Ym-1 и Mrc1 [20].

PAR1 и PAR4 — рецепторы, сопряженные с G-белками и активируемые протеолитическим расщеплением. Тромбин является одним из основных физиологических активаторов данных рецепторов, при этом PAR1 имеет более высокую аффинность к тромбину, чем PAR4 [47]. PAR обнаружены как в нейронах, так и в глиальных клетках. В патофизиологических условиях активация PAR1 в астроцитах стимулирует выброс глутамата и выработку провоспалительных цитокинов TNF α , IL6, IL1 β и iNOS. PAR4 стимулирует секрецию TNF α , способствует активации транскрипционного фактора NF- κ B, вызывает длительное повышение внутриклеточного кальция, а также увеличивает продукцию АФК [48].

В совокупности полученные данные указывают на противовоспалительную функцию β -аррестина 2 в центральной нервной системе (ЦНС). Его отсутствие сопровождается повышением базальной экспрессии мРНК провоспалительных цитокинов и рецепторов PAR в коре и гиппокампе, что свидетельствует о формировании устойчивого провоспалительного фенотипа. На фоне

STZ-индуцированного диабета этот эффект в целом сохраняется, однако в гиппокампе нокаутных животных дополнительно увеличивается экспрессия *Par4*, что указывает на возможное вовлечение этого рецептора в ответ на диабетическую гипергликемию.

Совокупность полученных данных позволяет сформулировать единую гипотезу, объясняющую на первый взгляд противоречивые эффекты нокаута *Arb2*. β -Аррестин 2 выступает двойственным регулятором с тканеспецифичными эффектами: в поджелудочной железе в условиях цитотоксического стресса он способствует гибели β -клеток через усиление NOX4-зависимого окислительного стресса и потенцирование р38 MAPK-сигнализации, тогда как в иммунных клетках и ЦНС выступает негативным регулятором воспалительных реакций. Отсутствие β -аррестина 2 одновременно повышает устойчивость β -клеток к STZ и снимает тормозной контроль над воспалительными каскадами, что проявляется как на системном уровне (в виде повышения доли нейтрофилов), так и локально в ЦНС (в виде усиления экспрессии мРНК провоспалительных цитокинов и рецепторов PAR). Мы предполагаем, что системный провоспалительный фон, формирующийся вследствие нарушения β -аррестина 2-зависимой интернализации хемокиновых рецепторов [39, 49], создает условия для усиленной активации глияльных клеток и повышенной экспрессии *Par1* и *Par4* в коре и гиппокампе. Таким образом, дефицит β -аррестина 2 смещает тканеспецифичный баланс его про- и противовоспалительных функций в зависимости от преобладающего патологического стимула, что определяет как протективный метаболический фенотип, так и усиленный провоспалительный статус в ЦНС.

Ограничения исследования

При интерпретации результатов следует учитывать ряд ограничений. Во-первых, использована модель

глобального нокаута гена *Arb2*, что не позволяет разделить вклад β -аррестина 2 в отдельных типах клеток, включая β -клетки поджелудочной железы, иммунные клетки, нейроны и клетки глии. Во-вторых, предполагаемое участие NOX4-зависимого окислительного стресса, р38 MAPK-сигнализации и рекрутирования иммунных клеток не было оценено напрямую; также мы не проводили гистологический анализ поджелудочной железы с оценкой массы β -клеток, их апоптоза и инфильтрации островков Лангерганса. В-третьих, экспрессию провоспалительных цитокинов и рецепторов PAR оценивали на уровне мРНК без определения содержания соответствующих белков. Кроме того, диабетический фенотип характеризовали по уровню глюкозы крови и динамике массы тела без дополнительных метаболических тестов. Наконец, исследование выполнено только на самцах мышей, что не позволяет оценить возможные половые различия.

Выводы

В настоящей работе на модели стрептозотоцин-индуцированного диабета показано, что глобальный нокаут гена β -аррестина 2 приводит к замедлению развития гипергликемии. В то же время отсутствие β -аррестина 2 ассоциировано с повышением базального уровня системного воспаления и формированием провоспалительного фенотипа в ЦНС, характеризующегося усилением экспрессии мРНК генов *Il6*, *Il1b*, *Tnf* и рецепторов *Par1* и *Par4* в коре и гиппокампе. В условиях диабета у нокаутных животных выявлено дополнительное увеличение экспрессии *Par4* в гиппокампе, что указывает на возможную роль β -аррестина 2-PAR4-зависимых механизмов в развитии нейровоспаления при гипергликемии. Полученные данные открывают перспективы для дальнейшего изучения роли β -аррестина 2 в патогенезе диабетических осложнений.

Литература

1. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Worldwide trends in diabetes prevalence and treatment from 1990 to 2022: a pooled analysis of 1108 population-representative studies with 141 million participants. *Lancet* (London, England). 2024; 404: 2077–93. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(24\)02317-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(24)02317-1).
2. Dedov II, Shestakova MV, Vikulova OK, Zheleznyakova AV, Isakov MA, Kutakova DV, et al. Epidemiology and key clinical and therapeutic indicators of diabetes mellitus in Russian Federation according to the World Health Organization's strategy goals. *Diabetes Mellit*. 2025; 28: 4–17. Available from: <https://doi.org/10.14341/DM13292>.
3. Mosenzon O, Cheng AY, Rabinstein AA, Sacco S. Diabetes and Stroke: What Are the Connections? *J Stroke*. 2023; 25: 26–38. Available from: <https://doi.org/10.5853/jos.2022.02306>.
4. Szablewski L. Associations Between Diabetes Mellitus and Neurodegenerative Diseases. *Int J Mol Sci*. 2025; 26: 542. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms26020542>.
5. Rocha KMA, Goulart A da S, Costa MT, Salgueiro ACF, Folmer V. The role of type 2 Diabetes mellitus as a risk factor for Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Res Soc Dev*. 2021; 10: e23410111673. Available from: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i1.11673>.
6. Rohm TV, Meier DT, Olefsky JM, Donath MY. Inflammation in obesity, diabetes, and related disorders. *Immunity*. 2022; 55 : 31–55. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.12.013>.
7. González P, Lozano P, Ros G, Solano F. Hyperglycemia and Oxidative Stress: An Integral, Updated and Critical Overview of Their Metabolic Interconnections. *Int J Mol Sci*. 2023; 24: 9352. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms24119352>.
8. Dong H, Zhang Y, Huang Y, Deng H. Pathophysiology of RAGE in inflammatory diseases. *Front Immunol*. 2022; 13. Available from: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.931473>.
9. Ighodaro OM. Molecular pathways associated with oxidative stress in diabetes mellitus. *Biomed Pharmacother*. 2018; 108: 656–62. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.09.058>.
10. Yaribeygi H, Atkin SL, Sahebkar A. A review of the molecular mechanisms of hyperglycemia-induced free radical generation leading to oxidative stress. *J Cell Physiol*. 2019; 234: 1300–12. Available from: <https://doi.org/10.1002/jcp.27164>.
11. Nedosugova LV, Markina YV, Bochkareva LA, Kuzina IA, Petunina NA, Yudina IY, et al. Inflammatory Mechanisms of Diabetes and Its Vascular Complications. *Biomedicines*. 2022; 10: 1168. Available from: <https://doi.org/10.3390/biomedicines10051168>.
12. Takeda Y, Matoba K, Sekiguchi K, Nagai Y, Yokota T, Utsunomiya K, et al. Endothelial Dysfunction in Diabetes. *Biomedicines*. 2020; 8: 182. Available from: <https://doi.org/10.3390/biomedicines8070182>.
13. Takata F, Nakagawa S, Matsumoto J, Dohgu S. Blood-Brain Barrier Dysfunction Amplifies the Development of Neuroinflammation: Understanding of Cellular Events in Brain Microvascular Endothelial Cells for Prevention and Treatment of BBB Dysfunction. *Front Cell Neurosci*. 2021; 15. Available from: <https://doi.org/10.3389/fncel.2021.661838>.
14. Rom S, Zuluaga-Ramirez V, Gajghate S, Seliga A, Winfield M, Heldt NA,

- et al. Hyperglycemia-Driven Neuroinflammation Compromises BBB Leading to Memory Loss in Both Diabetes Mellitus (DM) Type 1 and Type 2 Mouse Models. *Mol Neurobiol*. 2019; 56: 1883–96. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1195-5>.
15. Oliveira de Souza C, Sun X, Oh D. Metabolic Functions of G Protein-Coupled Receptors and β -Arrestin-Mediated Signaling Pathways in the Pathophysiology of Type 2 Diabetes and Obesity. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021; 12. Available from: <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.715877>.
 16. Wang H, Deng Q-W, Peng A-N, Xing F-L, Zuo L, Li S, et al. β -arrestin2 functions as a key regulator in the sympathetic-triggered immunodepression after stroke. *J Neuroinflammation*. 2018; 15: 102. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12974-018-1142-4>.
 17. Qi M, Chen T, Li L, Gao P, Li N, Zhang S, et al. Insight into the regulatory mechanism of β -arrestin2 and its emerging role in diseases. *Br J Pharmacol*. 2024; 181: 3019–38. Available from: <https://doi.org/10.1111/bph.16488>.
 18. Gu Y, Sun W, Zhang S, Wu J, Wei W. The emerging roles of β -arrestins in fibrotic diseases. *Acta Pharmacol Sin*. 2015; 36: 1277–87. Available from: <https://doi.org/10.1038/aps.2015.74>.
 19. Zhu L, Almaça J, Dadi PK, Hong H, Sakamoto W, Rossi M, et al. β -arrestin-2 is an essential regulator of pancreatic β -cell function under physiological and pathophysiological conditions. *Nat Commun*. 2017; 8: 14295. Available from: <https://doi.org/10.1038/ncomms14295>.
 20. Fang Y, Jiang Q, Li S, Zhu H, Xu R, Song N, et al. Opposing functions of β -arrestin 1 and 2 in Parkinson's disease via microglia inflammation and Npr3. *Cell Death Differ*. 2021; 28: 1822–36. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41418-020-00704-9>.
 21. Sun J, Lin X. β -Arrestin 2 is required for lysophosphatidic acid-induced NF- κ B activation. *Proc Natl Acad Sci*. 2008; 105: 17085–90. Available from: <https://doi.org/10.1073/pnas.0802701105>.
 22. Kim J, Zhang L, Peppel K, Wu J-H, Zidar DA, Brian L, et al. β -Arrestins Regulate Atherosclerosis and Neointimal Hyperplasia by Controlling Smooth Muscle Cell Proliferation and Migration. *Circ Res*. 2008; 103: 70–9. Available from: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.108.172338>.
 23. Galkov MD, Ivanova AE, Gulyaev MV, Kiseleva EV, Savinkova IG, Gorbacheva LR. The Influence of β -Arrestin-2 Gene Knockout in Mice on Survival of Cultured Astrocytes Exposed to Thrombin and on the Cerebral Thrombosis Aftereffects In Vivo. *Biochem (Moscow), Suppl Ser A Membr Cell Biol*. 2020; 14: 17–23. Available from: <https://doi.org/10.1134/S1990747819060060>.
 24. Santos EW, Oliveira DC de, Hastreiter A, Silva GB da, Beltran JS de O, Tsujita M, et al. Hematological and biochemical reference values for C57BL/6, Swiss Webster and BALB/c mice. *Brazilian J Vet Res Anim Sci*. 2016; 53: 138. Available from: <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.v53i2p138-145>.
 25. Furman BL. Streptozotocin-Induced Diabetic Models in Mice and Rats. *Curr Protoc*. 2021; 1. Available from: <https://doi.org/10.1002/cpz1.78>.
 26. Ravier MA, Leduc M, Richard J, Linck N, Varrault A, Pirof N, et al. β -Arrestin2 plays a key role in the modulation of the pancreatic beta cell mass in mice. *Diabetologia*. 2014; 57: 532–41. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00125-013-3130-7>.
 27. Goyal SN, Reddy NM, Patil KR, Nakhate KT, Ojha S, Patil CR, et al. Challenges and issues with streptozotocin-induced diabetes — A clinically relevant animal model to understand the diabetes pathogenesis and evaluate therapeutics. *Chem Biol Interact*. 2016; 244: 49–63. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2015.11.032>.
 28. Du J, Sun J, Li N, Li X, Sun W, Wei W. β -Arrestin2 deficiency attenuates oxidative stress in mouse hepatic fibrosis through modulation of NOX4. *Acta Pharmacol Sin*. 2021; 42: 1090–100. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41401-020-00545-9>.
 29. Elksnis A, Welsh N, Wikström P, Lau J, Carlsson P-O. The selective NOX4 inhibitor GLX7013159 decreases blood glucose concentrations and human beta-cell apoptotic rates in diabetic NMR1 nu/nu mice transplanted with human islets. *Free Radic Res*. 2023; 1–10. Available from: <https://doi.org/10.1080/10715762.2023.2284637>.
 30. Elksnis A, Gen J, Wikström P, Carlsson P-O, Welsh N. Pharmacological Inhibition of NOX4 Improves Mitochondrial Function and Survival in Human Beta-Cells. *Biomedicines*. 2021; 9: 1865. Available from: <https://doi.org/10.3390/biomedicines9121865>.
 31. Pang Y, Zhu H, Xu J, Yang L, Liu L, Li J. β -arrestin-2 is involved in irisin induced glucose metabolism in type 2 diabetes via p38 MAPK signaling. *Exp Cell Res*. 2017; 360: 199–204. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2017.09.006>.
 32. Ou Y, Zheng Z, Niu B, Su J, Su H. Different MAPK signal transduction pathways play different roles in the impairment of glucose-stimulated insulin secretion in response to IL-1 β . *Mol Med Rep*. 2020. Available from: <https://doi.org/10.3892/mmr.2020.11366>.
 33. Fukuda K, Tesch GH, Yap FY, Forbes JM, Flavell RA, Davis RJ, et al. MKK3 signalling plays an essential role in leukocyte-mediated pancreatic injury in the multiple low-dose streptozotocin model. *Lab Investig*. 2008; 88: 398–407. Available from: <https://doi.org/10.1038/labinvest.2008.10>.
 34. Su Y, Raghuvanshi SK, Yu Y, Nanney LB, Richardson RM, Richmond A. Altered CXCR2 Signaling in β -Arrestin-2-Deficient Mouse Models. *J Immunol*. 2005; 175: 5396–402. Available from: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.8.5396>.
 35. Pydi SP, Barella LF, Meister J, Wess J. Key Metabolic Functions of β -Arrestins: Studies with Novel Mouse Models. *Trends Endocrinol Metab*. 2021; 32: 118–29. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tem.2020.11.008>.
 36. Gargiulo S, Gramanzini M, Megna R, Greco A, Albanese S, Manfredi C, et al. Evaluation of Growth Patterns and Body Composition in C57Bl/6J Mice Using Dual Energy X-Ray Absorptiometry. *Biomed Res Int*. 2014; 2014: 1–11. Available from: <https://doi.org/10.1155/2014/253067>.
 37. Laboratory TJ. Body Weight Information for C57BL/6J. 2026. Available from: <https://www.jax.org/jax-mice-and-services/strain-data-sheet-pages/body-weight-chart-000664>.
 38. Feng M, Wang R, Deng L, Yang Y, Xia S, Liu F, et al. Arrestin beta-2 deficiency exacerbates periodontal inflammation by mediating activating transcription factor 6 activation and abnormal remodelling of the extracellular matrix. *J Clin Periodontol*. 2024; 51: 742–53. Available from: <https://doi.org/10.1111/jcpe.13952>.
 39. Sharma D, Parameswaran N. Multifaceted role of β -arrestins in inflammation and disease. *Genes Immun*. 2015; 16: 499–513. Available from: <https://doi.org/10.1038/gene.2015.37>.
 40. Hatanaka E, Monteagudo PT, Marrocos MSM, Campa A. Neutrophils and monocytes as potentially important sources of proinflammatory cytokines in diabetes. *Clin Exp Immunol*. 2006; 146: 443–7. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2006.03229.x>.
 41. Pettersson US, Christoffersson G, Massena S, Ahl D, Jansson L, Henriksnäs J, et al. Increased Recruitment but Impaired Function of Leukocytes during Inflammation in Mouse Models of Type 1 and Type 2 Diabetes. *PLoS One*. 2011; 6: e22480. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022480>.
 42. Harsunen M, Puff R, D'Orlando O, Giannopoulou E, Lachmann L, Beyerlein A, et al. Reduced Blood Leukocyte and Neutrophil Numbers in the Pathogenesis of Type 1 Diabetes. *Horm Metab Res*. 2013; 45: 467–70. Available from: <https://doi.org/10.1055/s-0032-1331226>.
 43. Fang X, Dorcelly B, Ding X, Yin S, Son N-H, Hu S-L, et al. Glycemic reduction alters white blood cell counts and inflammatory gene expression in diabetes. *J Diabetes Complications*. 2018; 32: 1027–34. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2018.08.003>.
 44. Jiang M-P, Xu C, Guo Y-W, Luo Q-J, Li L, Liu H-L, et al. β -arrestin 2 attenuates lipopolysaccharide-induced liver injury via inhibition of TLR4/NF- κ B signaling pathway-mediated inflammation in mice. *World J Gastroenterol*. 2018; 24: 216–25. Available from: <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i2.216>.
 45. Wang Y, Tang Y, Teng L, Wu Y, Zhao X, Pei G. Association of β -arrestin and TRAF6 negatively regulates Toll-like receptor-interleukin 1 receptor signaling. *Nat Immunol*. 2006; 7: 139–47. Available from: <https://doi.org/10.1038/ni1294>.
 46. Zhu J, Hu Z, Han X, Wang D, Jiang Q, Ding J, et al. Dopamine D2 receptor restricts astrocytic NLRP3 inflammasome activation via enhancing the interaction of β -arrestin2 and NLRP3. *Cell Death Differ*. 2018; 25: 2037–49. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41418-018-0127-2>.
 47. Peach CJ, Edgington-Mitchell LE, Bunnnett NW, Schmidt BL. Protease-activated receptors in health and disease. *Physiol Rev*. 2023; 103: 717–85. Available from: <https://doi.org/10.1152/physrev.00044.2021>.
 48. Luo W, Wang Y, Reiser G. Protease-activated receptors in the brain: Receptor expression, activation, and functions in neurodegeneration and neuroprotection. *Brain Res Rev*. 2007; 56: 331–45. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2007.08.002>.

49. Fong AM, Premont RT, Richardson RM, Yu YRA, Lefkowitz RJ, Patel DD. Defective lymphocyte chemotaxis in beta-arrestin2- and

GRK6-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002; 99: 7478–83. Available from: <https://doi.org/10.1073/pnas.112198299>.

References

- NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Worldwide trends in diabetes prevalence and treatment from 1990 to 2022: a pooled analysis of 1108 population-representative studies with 141 million participants. *Lancet* (London, England). 2024; 404: 2077–93. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(24\)02317-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(24)02317-1).
- Dedov II, Shestakova MV, Vikulova OK, Zheleznyakova AV, Isakov MA, Kutakova DV, et al. Epidemiology and key clinical and therapeutic indicators of diabetes mellitus in Russian Federation according to the World Health Organization's strategy goals. *Diabetes Mellit*. 2025; 28: 4–17. Available from: <https://doi.org/10.14341/DM13292>.
- Mosenzon O, Cheng AY, Rabinstein AA, Sacco S. Diabetes and Stroke: What Are the Connections? *J Stroke*. 2023; 25: 26–38. Available from: <https://doi.org/10.5853/jos.2022.02306>.
- Szablewski L. Associations Between Diabetes Mellitus and Neurodegenerative Diseases. *Int J Mol Sci*. 2025; 26: 542. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms26020542>.
- Rocha KMA, Goulart A da S, Costa MT, Salgueiro ACF, Folmer V. The role of type 2 Diabetes mellitus as a risk factor for Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Res Soc Dev*. 2021; 10: e23410111673. Available from: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i1.11673>.
- Rohm TV, Meier DT, Olefsky JM, Donath MY. Inflammation in obesity, diabetes, and related disorders. *Immunity*. 2022; 55: 31–55. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.12.013>.
- González P, Lozano P, Ros G, Solano F. Hyperglycemia and Oxidative Stress: An Integral, Updated and Critical Overview of Their Metabolic Interconnections. *Int J Mol Sci* 2023; 24: 9352. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms24119352>.
- Dong H, Zhang Y, Huang Y, Deng H. Pathophysiology of RAGE in inflammatory diseases. *Front Immunol*. 2022; 13. Available from: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.931473>.
- Ighodaro OM. Molecular pathways associated with oxidative stress in diabetes mellitus. *Biomed Pharmacother*. 2018; 108: 656–62. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.09.058>.
- Yaribeygi H, Atkin SL, Sahebkar A. A review of the molecular mechanisms of hyperglycemia-induced free radical generation leading to oxidative stress. *J Cell Physiol*. 2019; 234: 1300–12. Available from: <https://doi.org/10.1002/jcp.27164>.
- Nedosugova LV, Markina YV, Bochkareva LA, Kuzina IA, Petunina NA, Yudina IY, et al. Inflammatory Mechanisms of Diabetes and Its Vascular Complications. *Biomedicines*. 2022; 10: 1168. Available from: <https://doi.org/10.3390/biomedicines10051168>.
- Takeda Y, Matoba K, Sekiguchi K, Nagai Y, Yokota T, Utsunomiya K, et al. Endothelial Dysfunction in Diabetes. *Biomedicines*. 2020; 8: 182. Available from: <https://doi.org/10.3390/biomedicines8070182>.
- Takata F, Nakagawa S, Matsumoto J, Dohgu S. Blood-Brain Barrier Dysfunction Amplifies the Development of Neuroinflammation: Understanding of Cellular Events in Brain Microvascular Endothelial Cells for Prevention and Treatment of BBB Dysfunction. *Front Cell Neurosci*. 2021; 15. Available from: <https://doi.org/10.3389/fncel.2021.661838>.
- Rom S, Zuluaga-Ramirez V, Gajghate S, Seliga A, Winfield M, Heldt NA, et al. Hyperglycemia-Driven Neuroinflammation Compromises BBB Leading to Memory Loss in Both Diabetes Mellitus (DM) Type 1 and Type 2 Mouse Models. *Mol Neurobiol*. 2019; 56: 1883–96. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1195-5>.
- Oliveira de Souza C, Sun X, Oh D. Metabolic Functions of G Protein-Coupled Receptors and β -Arrestin-Mediated Signaling Pathways in the Pathophysiology of Type 2 Diabetes and Obesity. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021; 12. Available from: <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.715877>.
- Wang H, Deng Q-W, Peng A-N, Xing F-L, Zuo L, Li S, et al. β -arrestin2 functions as a key regulator in the sympathetic-triggered immunodepression after stroke. *J Neuroinflammation*. 2018; 15: 102. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12974-018-1142-4>.
- Qi M, Chen T, Li L, Gao P, Li N, Zhang S, et al. Insight into the regulatory mechanism of β -arrestin2 and its emerging role in diseases. *Br J Pharmacol*. 2024; 181: 3019–38. Available from: <https://doi.org/10.1111/bph.16488>.
- Gu Y, Sun W, Zhang S, Wu J, Wei W. The emerging roles of β -arrestins in fibrotic diseases. *Acta Pharmacol Sin*. 2015; 36: 1277–87. Available from: <https://doi.org/10.1038/aps.2015.74>.
- Zhu L, Almaça J, Dadi PK, Hong H, Sakamoto W, Rossi M, et al. β -arrestin-2 is an essential regulator of pancreatic β -cell function under physiological and pathophysiological conditions. *Nat Commun*. 2017; 8: 14295. Available from: <https://doi.org/10.1038/ncomms14295>.
- Fang Y, Jiang Q, Li S, Zhu H, Xu R, Song N, et al. Opposing functions of β -arrestin 1 and 2 in Parkinson's disease via microglia inflammation and Npr13. *Cell Death Differ*. 2021; 28: 1822–36. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41418-020-00704-9>.
- Sun J, Lin X. β -Arrestin 2 is required for lysophosphatidic acid-induced NF- κ B activation. *Proc Natl Acad Sci*. 2008; 105: 17085–90. Available from: <https://doi.org/10.1073/pnas.0802701105>.
- Kim J, Zhang L, Peppel K, Wu J-H, Zidar DA, Brian L, et al. β -Arrestins Regulate Atherosclerosis and Neointimal Hyperplasia by Controlling Smooth Muscle Cell Proliferation and Migration. *Circ Res*. 2008; 103: 70–9. Available from: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.108.172338>.
- Galkov MD, Ivanova AE, Gulyaev MV, Kiseleva EV, Savinkova IG, Gorbacheva LR. The Influence of β -Arrestin-2 Gene Knockout in Mice on Survival of Cultured Astrocytes Exposed to Thrombin and on the Cerebral Thrombosis Aftereffects In Vivo. *Biochem (Moscow), Suppl Ser A Membr Cell Biol*. 2020; 14: 17–23. Available from: <https://doi.org/10.1134/S1990747819060060>.
- Santos EW, Oliveira DC de, Hastreiter A, Silva GB da, Beltran JS de O, Tsujita M, et al. Hematological and biochemical reference values for C57BL/6, Swiss Webster and BALB/c mice. *Brazilian J Vet Res Anim Sci*. 2016; 53: 138. Available from: <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.v53i2p138-145>.
- Furman BL. Streptozotocin-Induced Diabetic Models in Mice and Rats. *Curr Protoc*. 2021; 1. Available from: <https://doi.org/10.1002/cpz.1.78>.
- Ravier MA, Leduc M, Richard J, Linck N, Varrault A, Pirot N, et al. β -Arrestin2 plays a key role in the modulation of the pancreatic beta cell mass in mice. *Diabetologia*. 2014; 57: 532–41. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00125-013-3130-7>.
- Goyal SN, Reddy NM, Patil KR, Nakhate KT, Ojha S, Patil CR, et al. Challenges and issues with streptozotocin-induced diabetes — A clinically relevant animal model to understand the diabetes pathogenesis and evaluate therapeutics. *Chem Biol Interact*. 2016; 244: 49–63. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2015.11.032>.
- Du J, Sun J, Li N, Li X, Sun W, Wei W. β -Arrestin2 deficiency attenuates oxidative stress in mouse hepatic fibrosis through modulation of NOX4. *Acta Pharmacol Sin*. 2021; 42: 1090–100. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41401-020-00545-9>.
- Elksnis A, Welsh N, Wikström P, Lau J, Carlsson P-O. The selective NOX4 inhibitor GLX7013159 decreases blood glucose concentrations and human beta-cell apoptotic rates in diabetic NMRI nu/nu mice transplanted with human islets. *Free Radic Res*. 2023; 1–10. Available from: <https://doi.org/10.1080/10715762.2023.2284637>.
- Elksnis A, Cen J, Wikström P, Carlsson P-O, Welsh N. Pharmacological Inhibition of NOX4 Improves Mitochondrial Function and Survival in Human Beta-Cells. *Biomedicines*. 2021; 9: 1865. Available from: <https://doi.org/10.3390/biomedicines9121865>.
- Pang Y, Zhu H, Xu J, Yang L, Liu L, Li J. β -arrestin-2 is involved in irisin induced glucose metabolism in type 2 diabetes via p38 MAPK signaling. *Exp Cell Res*. 2017; 360: 199–204. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2017.09.006>.
- Ou Y, Zheng Z, Niu B, Su J, Su H. Different MAPK signal transduction pathways play different roles in the impairment of glucose-stimulated insulin secretion in response to IL-1 β . *Mol Med Rep*. 2020. Available from: <https://doi.org/10.3892/mmr.2020.11366>.
- Fukuda K, Tesch GH, Yap FY, Forbes JM, Flavell RA, Davis RJ,

- et al. MKK3 signalling plays an essential role in leukocyte-mediated pancreatic injury in the multiple low-dose streptozotocin model. *Lab Invest*. 2008; 88: 398–407. Available from: <https://doi.org/10.1038/labinvest.2008.10>.
34. Su Y, Raghuvanshi SK, Yu Y, Nanney LB, Richardson RM, Richmond A. Altered CXCR2 Signaling in β -Arrestin-2-Deficient Mouse Models. *J Immunol*. 2005; 175: 5396–402. Available from: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.8.5396>.
 35. Pydi SP, Barella LF, Meister J, Wess J. Key Metabolic Functions of β -Arrestins: Studies with Novel Mouse Models. *Trends Endocrinol Metab*. 2021; 32: 118–29. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tem.2020.11.008>.
 36. Gargiulo S, Gramanzini M, Megna R, Greco A, Albanese S, Manfredi C, et al. Evaluation of Growth Patterns and Body Composition in C57Bl/6J Mice Using Dual Energy X-Ray Absorptiometry. *Biomed Res Int*. 2014; 2014: 1–11. Available from: <https://doi.org/10.1155/2014/253067>.
 37. Laboratory TJ. Body Weight Information for C57BL/6J. 2026. Available from: <https://www.jax.org/jax-mice-and-services/strain-data-sheet-pages/body-weight-chart-000664>.
 38. Feng M, Wang R, Deng L, Yang Y, Xia S, Liu F, et al. Arrestin beta-2 deficiency exacerbates periodontal inflammation by mediating activating transcription factor 6 activation and abnormal remodelling of the extracellular matrix. *J Clin Periodontol*. 2024; 51: 742–53. Available from: <https://doi.org/10.1111/jcpe.13952>.
 39. Sharma D, Parameswaran N. Multifaceted role of β -arrestins in inflammation and disease. *Genes Immun*. 2015; 16: 499–513. Available from: <https://doi.org/10.1038/gene.2015.37>.
 40. Hatanaka E, Monteagudo PT, Marrocos MSM, Campa A. Neutrophils and monocytes as potentially important sources of proinflammatory cytokines in diabetes. *Clin Exp Immunol*. 2006; 146: 443–7. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2006.03229.x>.
 41. Petterson US, Christoffersson G, Massena S, Ahl D, Jansson L, Henriksnäs J, et al. Increased Recruitment but Impaired Function of Leukocytes during Inflammation in Mouse Models of Type 1 and Type 2 Diabetes. *PLoS One*. 2011; 6: e22480. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022480>.
 42. Harsunen M, Puff R, D'Orlando O, Giannopoulou E, Lachmann L, Beyerlein A, et al. Reduced Blood Leukocyte and Neutrophil Numbers in the Pathogenesis of Type 1 Diabetes. *Horm Metab Res*. 2013; 45: 467–70. Available from: <https://doi.org/10.1055/s-0032-1331226>.
 43. Fang X, Dorcelly B, Ding X, Yin S, Son N-H, Hu S-L, et al. Glycemic reduction alters white blood cell counts and inflammatory gene expression in diabetes. *J Diabetes Complications*. 2018; 32: 1027–34. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2018.08.003>.
 44. Jiang M-P, Xu C, Guo Y-W, Luo Q-J, Li L, Liu H-L, et al. β -arrestin 2 attenuates lipopolysaccharide-induced liver injury via inhibition of TLR4/NF- κ B signaling pathway-mediated inflammation in mice. *World J Gastroenterol*. 2018; 24: 216–25. Available from: <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i2.216>.
 45. Wang Y, Tang Y, Teng L, Wu Y, Zhao X, Pei G. Association of β -arrestin and TRAF6 negatively regulates Toll-like receptor-interleukin 1 receptor signaling. *Nat Immunol*. 2006; 7: 139–47. Available from: <https://doi.org/10.1038/ni1294>.
 46. Zhu J, Hu Z, Han X, Wang D, Jiang Q, Ding J, et al. Dopamine D2 receptor restricts astrocytic NLRP3 inflammasome activation via enhancing the interaction of β -arrestin2 and NLRP3. *Cell Death Differ*. 2018; 25: 2037–49. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41418-018-0127-2>.
 47. Peach CJ, Edgington-Mitchell LE, Bunnnett NW, Schmidt BL. Protease-activated receptors in health and disease. *Physiol Rev*. 2023; 103: 717–85. Available from: <https://doi.org/10.1152/physrev.00044.2021>.
 48. Luo W, Wang Y, Reiser G. Protease-activated receptors in the brain: Receptor expression, activation, and functions in neurodegeneration and neuroprotection. *Brain Res Rev*. 2007; 56: 331–45. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2007.08.002>.
 49. Fong AM, Premont RT, Richardson RM, Yu YRA, Lefkowitz RJ, Patel DD. Defective lymphocyte chemotaxis in beta-arrestin2- and GRK6-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002; 99: 7478–83. Available from: <https://doi.org/10.1073/pnas.112198299>.

РОЛЬ ПРОДУКТОВ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ ДЕСТРУКЦИИ БЕЛКОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ И ПРОГРЕССИРОВАНИИ НАРУЖНОГО ГЕНИТАЛЬНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА

М. В. Осиков^{1,2}, И. В. Курносенко¹, В. А. Крюков^{1,2} ✉, В. А. Бивалькевич^{1,2}, В. А. Сумеркина¹

¹ Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия

² Челябинская областная клиническая больница, Челябинск, Россия

Для наружного генитального эндометриоза характерна высокая распространенность. Несмотря на несомненную роль окислительного стресса в развитии эндометриоза, его особенности при прогрессировании заболевания недостаточно изучены. Цель проведенного исследования — оценить роль продуктов окислительной модификации белков (ОМБ) в прогрессировании заболевания. В исследовании приняли участие 28 женщин с установленным и гистологически подтвержденным диагнозом наружного генитального эндометриоза. В зависимости от стадии заболевания по классификации Американской ассоциации гинекологов-лапароскопистов (AAGL) участниц распределили в группы 1 (II–III стадия, $n = 10$) и 2 (IV стадия, $n = 18$). В гомогенате эктопического эндометрия определяли содержание продуктов ОМБ методом спектрофотометрии. У пациенток группы 2 следующие показатели были статистически значимо выше, чем у женщин из группы 1: суммарное содержание продуктов ОМБ ($p = 0,040$), альдегид-динитрофенилгидразоны основного характера ($p = 0,039$) и общее количество кетон-динитрофенилгидразонов ($p = 0,024$). Также у женщин из группы 2 выявили статистически значимо более низкое значение резервно-адаптационного потенциала, чем у пациенток из группы 1 ($p = 0,045$). По результатам корреляционного анализа обнаружена прямая корреляционная связь между тяжестью заболевания и содержанием продуктов ОМБ, имеющих межгрупповые различия (R от 0,397 до 0,443, $p < 0,05$), а также обратную корреляционную связь с резервно-адаптационным потенциалом ($R = -0,388$, $p = 0,042$). В соответствии с полученными данными активность окислительного стресса в очагах эндометриоза коррелировала с тяжестью заболевания. При этом характерны накопление продуктов ОМБ и истощение адаптационных резервов ткани.

Ключевые слова: эндометриоз, окислительный стресс, окислительная модификация белков, распространенный наружный генитальный эндометриоз, маркеры эндометриоза

Вклад авторов: М. В. Осиков, И. В. Курносенко — разработка идеи, концепции и дизайна работы, редактирование и утверждение окончательного варианта рукописи; В. А. Крюков — разработка дизайна работы, сбор и статистическая обработка данных, интерпретация данных, написание и редактирование рукописи; В. А. Бивалькевич — сбор и обработка данных; В. А. Сумеркина — проведение лабораторного этапа исследования.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России (протокол № 2 от 05 мая 2025 г.). Все участницы подписали добровольное согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Владимир Александрович Крюков
ул. Овчинникова, д. 22, кв. 120, г. Челябинск, 454011, Россия; vovchik-92@bk.ru

Статья получена: 01.04.2026 **Статья принята к печати:** 30.05.2026 **Опубликована онлайн:** 17.06.2026

DOI: 10.24075/vrgmu.2026.031

Авторские права: © 2026 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/>).

ROLE OF OXIDATIVE PROTEIN DESTRUCTION PRODUCTS IN THE EXTERNAL GENITAL ENDOMETRIOSIS PATHOGENESIS AND PROGRESSION

Osikov MV^{1,2}, Kurnosenko IV¹, Kryukov VA^{1,2} ✉, Bivalkevich VA^{1,2}, Sumerkina VA¹

¹ South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

² Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russia

External genital endometriosis is characterized by high prevalence. Despite unquestionable role of oxidative stress in the development of endometriosis, its features associated with the disease progression are poorly understood. The study aimed to assess the role of oxidative protein modification (OPM) products in the disease progression. A total of 28 women with the established and histologically verified diagnosis of endometriosis took part in the study. The subjects were stratified into group 1 (stage II–III, $n = 10$) and group 2 (stage IV, $n = 18$) based on the disease stage in accordance with the American Association of Gynecologic Laparoscopists (AAGL) classification. The content of OPM products in the ectopic endometrium homogenate was determined by spectrophotometry. The following indicators were significantly higher in patients of group 2, than in patients of group 1: the total OPM product content ($p = 0.040$), basic aldehyde-dinitrophenylhydrazones ($p = 0.039$), and the total amount of ketone-dinitrophenylhydrazones ($p = 0.024$). Furthermore, women of group 2 showed significantly lower reserve-adaptative potential values, than patients of group 1 ($p = 0.045$). We found a positive correlation between the disease severity and the content of OPM products showing intergroup differences (R between 0.397 and 0.443, $p < 0.05$), along with the negative correlation with the reserve-adaptative potential ($R = -0.388$, $p = 0.042$) based on the correlation analysis results. According to the data obtained, the oxidative stress activity in endometriosis foci was correlated with the disease severity. Furthermore, accumulation of OPM products and depletion of the tissue adaptive capacity are typical.

Keywords: endometriosis, oxidative stress, oxidative protein modification, advanced external genital endometriosis, endometriosis markers

Author contribution: Osikov MV, Kurnosenko IV — developing the research idea, concept and design, editing and approving the final version of the manuscript; Kryukov VA — developing the research design, data acquisition and statistical processing, data interpretation, manuscript writing and editing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the South Ural State Medical University (protocol No. 2 dated 05 May 2025). All subjects submitted the informed consent to take part in the study.

✉ **Correspondence should be addressed:** Vladimir A. Kryukov
Ovchinnikova 22, kv. 120, Chelyabinsk, 454011, Russia; vovchik-92@bk.ru

Received: 01.04.2026 **Accepted:** 30.05.2026 **Published online:** 17.06.2026

DOI: 10.24075/brsmu.2026.031

Copyright: © 2026 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/>).

Эндометриоз — одно из самых распространенных заболеваний у женщин репродуктивного возраста. Развитие эндометриозных очагов связано с повторяющимися эпизодами внутрибрюшного кровотечения. Возникающий при этом локальный окислительный стресс является одним из патогенетических факторов прогрессирования эндометриоза [1, 2]. Трудности оценки уровней активных форм кислорода при данном заболевании приводят к необходимости исследования продуктов окислительного стресса [3]. Под влиянием продуктов окислительного стресса, в частности, продуктов окислительной модификации белков (ОМБ) происходит изменение клеточных функций. Продукты ОМБ играют роль воспалительного медиатора при различных хронических заболеваниях. Благодаря стабильности структуры продукты ОМБ могут быть использованы в оценке тяжести окислительного стресса при эндометриозе. Ранее было установлено повышенное содержание продуктов ОМБ в сыворотке крови, перитонеальной и фолликулярной жидкости у пациенток с наружным генитальным эндометриозом [3–5]. Но поскольку эндометриозные очаги — основная патоморфологическая единица эндометриоза, изучение особенностей течения патологических процессов в эктопическом эндометрии является ключевым в изучении патогенеза и выявлении маркеров эндометриоза [6].

Цель исследования — оценить роль продуктов окислительной деструкции белков в патогенезе и прогрессировании распространенного наружного генитального эндометриоза.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на базе гинекологического отделения ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница» с 03.02.2025 по 15.12.2025. Критерии включения в исследование: женский пол, возраст 18–45 лет, установленный по итогам проведенной лечебно-диагностической лапароскопии диагноз распространенного наружного генитального эндометриоза, наличие подписанного информированного согласия. Критерии исключения: беременность, кормление грудью, терапия системными глюкокортикостероидами, гормональная терапия эндометриоза в течение 3 месяцев до включения в исследование, предрак и рак шейки матки, гиперплазия эндометрия, полипы эндометрия, субмукозные миомы тела матки и гибридные миомы тела матки с деформацией полости, воспалительные заболевания органов малого таза; сахарный диабет 1-го и 2-го типов, заболевания щитовидной железы в стадии субкомпенсации и декомпенсации, эндогенный гиперкортицизм, гиперпаратиреоз, акромегалия, аутоиммунные ревматические заболевания, злокачественные новообразования.

В исследование включили 28 пациенток (средний возраст $31,8 \pm 6,9$ года), у которых была проведена лечебно-диагностическая лапароскопия. У всех женщин по результатам лапароскопии проведена оценка стадии наружного генитального эндометриоза по классификации Американской ассоциации гинекологов-лапароскопистов (AAGL) [7]: у 5 (17,85%), 5 (17,85%), и 18 (64,3%) пациенток установлена II, III, IV стадия соответственно. Участники исследования разделили на две группы в зависимости от стадии наружного генитального эндометриоза по шкале AAGL с учетом тяжести и рисков проведения оперативного лечения [8]. Участники исследования с II и III стадиями наружного генитального эндометриоза

по классификации AAGL включили в группу 1 ($n = 10$), а пациенток с IV стадией — в группу 2 ($n = 18$). Возрастной состав и выраженность хронического болевого синдрома (оценка по визуально-аналоговой шкале) у женщин групп 1 и 2 были сопоставимы ($p > 0,05$). У всех пациенток диагноз эндометриоза подтвержден гистологически.

Во время лечебно-диагностических лапароскопий у пациенток проводили энуклеацию кист яичников, иссечение эндометриозных гетеротопий и эндометриозных инфильтратов. Для получения гомогенатов эктопического эндометрия отбирали части капсул кист, эктопических очагов и эндометриозных инфильтратов при помощи «холодных» ножниц без использования энергий. Эктопический эндометрий гомогенизировали с 0,9%-м раствором натрия хлорида в течение 3 мин при температуре 4 °C (1 : 10). Содержание продуктов ОМБ в гомогенате эктопического эндометрия определяли на спектрофотометре «СФ-56» («ЛОМО-Спектр», Россия) по реакции карбонильных производных белков с 2,4-динитрофенилгидразином с последующей регистрацией ранних и поздних продуктов ОМБ — альдегид-динитрофенилгидразонов (АДНФГ) и кетон-динитрофенилгидразонов (КДНФГ) соответственно — в ультрафиолетовой части спектра и в области видимого света [9]. Карбонильные производные окисленных белков регистрировали на следующих длинах волн в ультрафиолетовой части спектра (продукты нейтрального происхождения): АДНФГ — 230, 254, 270, 280 и 356 нм; КДНФГ — 363 и 370 нм; в области видимого света (продукты основного происхождения): АДНФГ — 428 и 430 нм; КДНФГ — 434, 524, 530 и 535 нм. Результат выражали в единицах оптической плотности на массу белка (у.е./мг). Для оценки металл-индуцированной ОМБ активировали окисление белков гидроксильным радикалом OH^\bullet в реакции Фентона, используя реакционную смесь, содержащую приготовленные *ex tempore* растворы FeSO_4 (10 мМ), перекиси водорода (0,3 мМ) и ЭДТА (10 мМ). Резервно-адаптационный потенциал (РАП) рассчитывали как отношение результатов измерения продуктов спонтанного окисления белков к индуцированному, принимая результаты измерения индуцированного окисления белков за 100%.

Статистический анализ проводили в программном обеспечении «Jamovi», версия 2.7.17 (J. Love, D. Dropmann, R. Selker, Австралия). Поскольку оцениваемые показатели имели распределение, отличное от нормального, их цифровые значения представлены как $Me (Q_{25}; Q_{75})$, а значимость различий оценивали при помощи критерия Манна-Уитни. Для выявления связи между показателями проводили корреляционный анализ с использованием коэффициента корреляции Спирмена (R). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Полученные значения содержания продуктов окислительной модификации белков и РАП в гомогенатах эктопического эндометрия у пациенток с распространенным наружным генитальным эндометриозом представлены в таблице.

При оценке содержания продуктов ОМБ в спонтанном режиме детекции у пациенток из группы 2 выявили статистически значимо более высокий уровень суммарного содержания продуктов ОМБ ($p = 0,040$), АДНФГ основного характера, КДНФГ нейтрального характера и общего количества КДНФГ, чем у женщин группы 1. Суммарное содержание АДНФГ нейтрального характера, общего

Таблица. Показатели окислительной модификации белков в гомогенатах эктопического эндометрия у пациенток с распространенным наружным генитальным эндометриозом

Показатели	Группа 1 (n = 10)	Группа 2 (n = 18)	p
Спонтанный режим детекции			
S OMB, у.е./мг белка	46,3 [30,8; 52,8]	68,7 [50,3; 116]	0,04
S АДНФГ, у.е./мг белка	41,5 [27,8; 49,3]	62,1 [42,5; 103]	0,08
S АДНФГ вс, у.е./мг белка	1,83 [1,02; 3,07]	4,84 [3,45; 5,95]	0,039
S АДНФГ уф, у.е./мг белка	38,6 [26,6; 47,7]	58,2 [36,2; 96,6]	0,109
S КДНФГ, у.е./мг белка	3,59 [2,86; 5,15]	7,49 [6,45; 11,0]	0,024
S КДНФГ вс, у.е./мг белка	0,192 [0,071; 0,367]	0,45 [0,332; 0,784]	0,076
S КДНФГ уф, у.е./мг белка	3,4 [2,79; 4,79]	6,98 [5,81; 10,6]	0,021
Металл-катализируемый режим детекции			
S OMB, у.е./мг белка	361 [246; 469]	322 [224; 469]	0,796
S АДНФГ, у.е./мг белка	286 [182; 389]	266 [182; 389]	0,832
S АДНФГ, вс, у.е./мг белка	55,0 [37,7; 71,9]	42,1 [33,8; 60,5]	0,464
S АДНФГ, уф, у.е./мг белка	226 [164; 315]	226 [152; 330]	0,906
S КДНФГ, у.е./мг белка	69 [44,7; 86,6]	53,7 [41,3; 80,9]	0,524
S КДНФГ, вс, у.е./мг белка	5,87 [3,81; 7,6]	4,19 [3,6; 6,43]	0,436
S КДНФГ, уф, у.е./мг белка	63,2 [40,9; 79]	49,5 [38,2; 75,1]	0,524
Расчетные показатели			
РАП, %	85,6 [78,1; 91]	74,8 [71,1; 84,1]	0,045

Примечание: p — уровень статистической значимости по критерию Манна–Уитни; S — суммарное содержание продукта (ов) OMB; АДНФГ — альдегид-динитрофенилгидразоны; КДНФГ — кетон-динитрофенилгидразоны; уф — ультрафиолетовая область спектра; вс — видимая область спектра; у.е./мг — содержание продуктов OMB в единицах оптической плотности на массу белка.

количества АДНФГ и КДНФГ основного характера у пациенток групп 1 и 2 были сопоставимы. Статистически значимых различий в содержании различных продуктов OMB в металл-катализируемом режиме детекции у пациенток группы 1 по сравнению с женщинами группы 2 не обнаружено.

По результатам проведенного корреляционного анализа выявили пять значимых корреляционных связей между тяжестью наружного генитального эндометриоза и содержанием продуктов OMB в спонтанном режиме детекции. Четыре из них — прямые корреляционные связи стадии наружного генитального эндометриоза и суммарного содержания в спонтанном режиме детекции общего количества продуктов OMB, АДНФГ основного характера, общего количества КДНФГ и КДНФГ нейтрального характера. Пятая выявленная корреляционная связь — обратная связь РАП и тяжести наружного генитального эндометриоза. Значение коэффициента Спирмена и уровень статистической значимости выявленных значимых корреляционных связей представлены на рисунке.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Повышение содержания продуктов OMB в гомогенате эктопического эндометрия свидетельствует об участии окислительного стресса в патогенезе наружного генитального эндометриоза. Повышение суммарного содержания продуктов OMB в спонтанном режиме детекции может быть связано со значимой ролью митохондрий в формировании окислительного стресса непосредственно в очагах эндометриоза. В настоящее время подтверждено увеличение количества митохондрий в клетках эктопического эндометрия, а также наличие таких структурных изменений митохондрий, как удлинение, увеличение количества и плотности крист. Эти изменения ведут к повышенной биоэнергетической активности

митохондрий в очагах эндометриоза, повышенной продукции активных форм кислорода и закислению среды [10]. Установлено, что в эндометрии пациенток с наружным генитальным эндометриозом увеличен синтез матричной NO-синтазы [11, 12], что приводит к повышению генерации оксида азота (II). Вследствие этого повышается содержание АДНФГ и КДНФГ в спонтанном режиме детекции OMB.

Повышенное содержание продуктов OMB в гомогенатах эндометрия может быть связано с окислительным стрессом, вызванным увеличением содержания свободного и накопленного в стромальных эндометриодных клетках железа [4–6].

Образование свободного железа в перитонеальной жидкости происходит при рефлюксе менструальной крови двумя путями: при разрушении гемоглобина гемоксигеназой-1 и образования токсичного гема при фагоцитозе эритроцитов привлеченными перитонеальными макрофагами. Свободное перитонеальное железо участвует в реакции Фентона и приводит к образованию свободных радикалов. Привлеченные перитонеальные макрофаги в свою очередь стимулируют миграцию к очагам эндометриоза других иммунных клеток, вместе с которыми активно продуцируют АФК, еще в большей степени усиливая активность окислительного стресса [12–15]. Накопление продуктов OMB в перитонеальной жидкости также стимулирует окислительный метаболизм нейтрофилов и моноцитов, что способствует еще большей продукции АФК [4].

В очагах эндометриоза установлено снижение синтеза железо-регулирующих протеинов 1 и 2 [16, 17], что приводит к накоплению железа и активации железо-зависимого окисления. Результатом этого становятся гибель части эндометриодных клеток, высвобождение цитокинов, фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и повторная активация пролиферации, адгезии и ангиогенеза в эндометриодных очагах [14, 18–20].

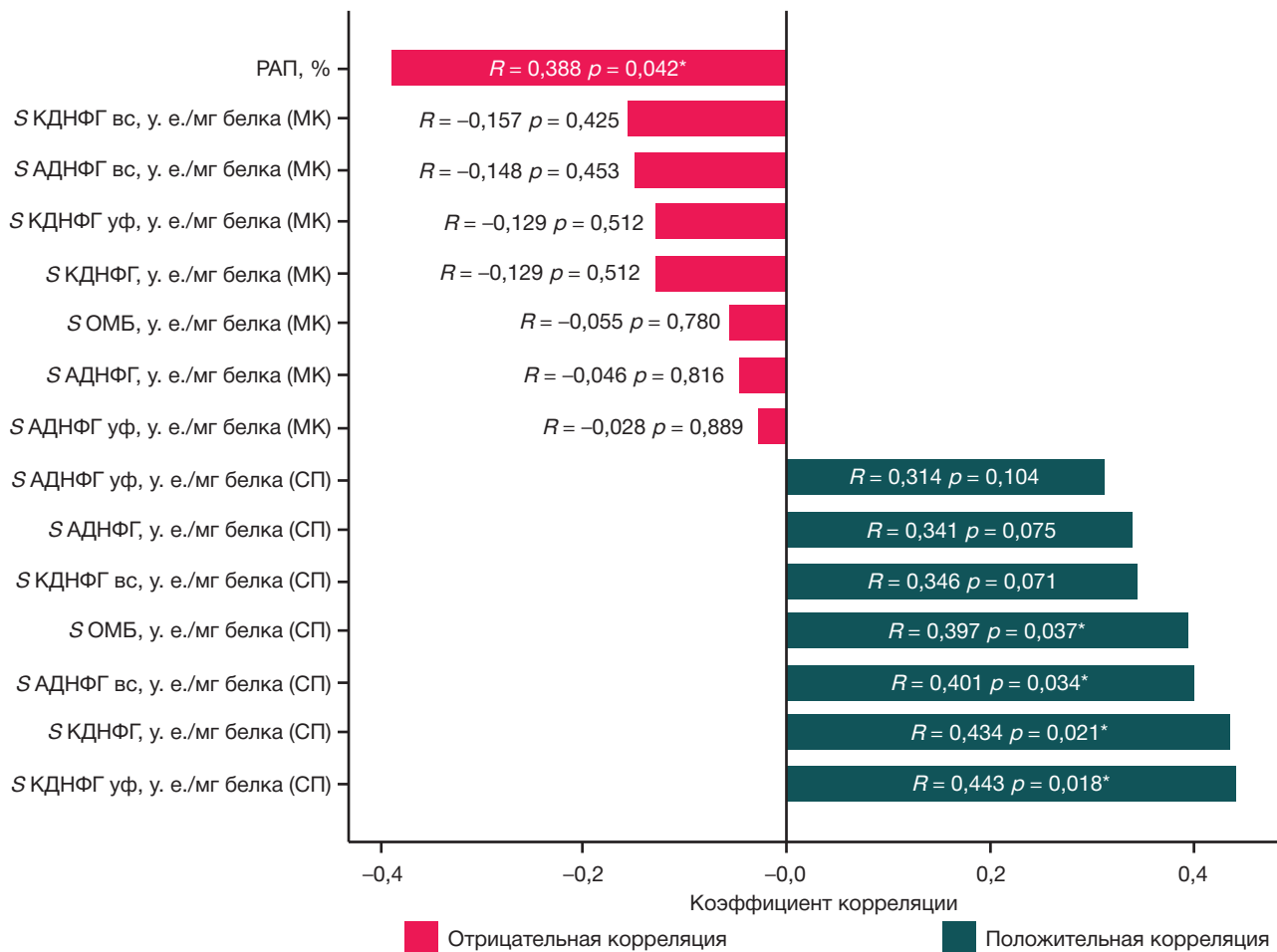


Рис. Корреляционные связи между показателями окислительной модификации белков в гомогенате эктопического эндометрия и тяжести распространенного наружного генитального эндометриоза по классификации AAGL. S — суммарное содержание продукта (ов) ОМБ; АДНФГ — альдегид-динитрофенилгидразоны; КДНФГ — кетон-динитрофенилгидразоны; уф — ультрафиолетовая область спектра; вс — видимая область спектра; у.е./мг — содержание продуктов ОМБ в единицах оптической плотности на массу белка; МК — металл-катализируемый режим детекции; СП — спонтанный режим детекции; R — коэффициент Спирмена; p — уровень статистической значимости; * — статистически значимые корреляции

Повышение общего количества КДНФГ в спонтанном режиме детекции, а также количества КДНФГ в ультрафиолетовой области спектра говорит о длительном течении окислительного стресса у пациенток с IV стадией эндометриоза по классификации AAGL [9]. В свою очередь, продолжительное воздействие продуктов ОМБ снижает уровень Е-кадгерина, ответственного за ингибирование инвазии, повышает экспрессию генов p-ERK и p-P38 в МАРК-пути и способствует пролиферации клеток в очагах эндометриоза [21].

Несмотря на отсутствие значимых различий в содержании продуктов ОМБ в металл-катализируемом режиме детекции, снижение РАП при IV стадии распространенного наружного генитального эндометриоза свидетельствует о снижении адаптации клеток эктопического эндометрия к окислительному стрессу по мере прогрессирования эндометриозного процесса. В таком случае повышение активности окислительного стресса может приводить к повреждению клеток и, как следствие, активации сигнального пути NF-κB. Активация пути NF-κB может приводить к повышенному синтезу интерлейкина (ИЛ) 2, ИЛ-10, ИЛ-27 и VEGF,

что будет увеличивать рост, пролиферацию и инвазию эндометриозных клеток в окружающие ткани [11, 12, 22].

Выводы

Активность окислительного стресса при наружном генитальном эндометриозе коррелирует с тяжестью заболевания, что подтверждается повышением суммарного содержания продуктов ОМБ, АДНФГ основного характера, общего количества КДНФГ и КДНФГ нейтрального характера в спонтанном режиме детекции, а также снижением РАП. Повышение количества продуктов ОМБ может быть обусловлено изменением функции митохондрий клеток эктопического эндометрия, увеличением синтеза оксида азота (II) и накоплением железа в очагах эндометриоза, а также накоплением свободного железа в брюшной полости. Выявленные особенности редокс-статуса в очагах эндометриоза могут быть использованы как потенциальный сывороточный маркер наружного генитального эндометриоза. Для проверки данной гипотезы необходимы дальнейшие исследования.

Литература

1. Becker CM, Bokor A, Heikinheimo O, Home A, Jansen F, Kiesel L, et al. ESHRE guideline: endometriosis. *Human Reproduction Open*. 2022; 2022 (2): hoac009. DOI: 10.1093/hropen/hoac009. PubMed PMID: 35350465.
2. Amini L, Chekini R, Nateghi MR, Haghani H, Jamialahmadi T, Sathyapalan T, et al. The effect of combined vitamin C and vitamin E supplementation on oxidative stress markers in women with endometriosis: a randomized, triple-blind placebo-controlled clinical trial. *Pain Research and Management*. 2021; 2021: 1–6. DOI: 10.1155/2021/5529741. PubMed PMID: 34122682.
3. Chang L-Y, Hou X-X, Li D-J, Wang X-Q. Metabolite changes in patients with endometriosis: new potential diagnostic and therapeutic targets. *Reproductive and Developmental Medicine*. 2025; 09 (02): 108–18. DOI: 10.1097/RD9.000000000000122.
4. Song Y, Liu J, Qiu Z, Chen D, Luo C, Liu X, et al. Advanced oxidation protein products from the follicular microenvironment and their role in infertile women with endometriosis. *Exp Ther Med*. 2018; 15 (1): 479–86. DOI: 10.3892/etm.2017.5390. PubMed PMID: 29387200.
5. Santulli P, Chouzenoux S, Fiorese M, Marcellin L, Lemarechal H, Millischer AE, et al. Protein oxidative stress markers in peritoneal fluids of women with deep infiltrating endometriosis are increased. *Hum Reprod*. 2015; 30 (1): 49–60. DOI: 10.3892/etm.2017.5390. PubMed PMID: 25376454.
6. Tomkins NE, Girling JE, Boughton B, Holdsworth-Carson SJ. Is there a role for small molecule metabolite biomarkers in the development of a diagnostic test for endometriosis? *Systems Biology in Reproductive Medicine*. 2022; 68 (2): 89–112. DOI: 10.1080/19396368.2022.2027045. PubMed PMID: 35361022.
7. Российское общество акушеров-гинекологов. Эндометриоз. Клинические рекомендации. 2024. Доступно по ссылке: https://cr.minzdrav.gov.ru/preview-cr/259_2.
8. Andres MP, Casagrande De Camargo P, Orlandi CC, Silva MP, Ferreira AC, Azevedo RR et al. 12366 Surgical Outcomes of the National Training Program (PROAD) for minimally invasive surgery for endometriosis in Brazil. *Journal of Minimally Invasive Gynecology*. 2024; 31 (11): S152–S153. DOI: 10.1016/j.jmig.2024.09.969.
9. Фомина М. А., Абаленихина Ю. В. Способ комплексной оценки содержания продуктов окислительной модификации белков в тканях и биологических жидкостях: методические рекомендации. РИО РязГМУ, 2014; 60 с.
10. Assaf L, Eid AA, Nassif J. Role of AMPK/mTOR, mitochondria, and ROS in the pathogenesis of endometriosis. *Life Sciences*. 2022; 306: 120805. DOI: 10.1016/j.lfs.2022.120805. PubMed PMID: 35850246.
11. Didziokaite G, Biliute G, Gudaite J, Kvedariene V. Oxidative stress as a potential underlying cause of minimal and mild endometriosis-related infertility. *IJMS*. 2023; 24 (4): 3809. DOI: 10.3390/ijms24043809. PubMed PMID: 36835217.
12. Ansariyani H, Yavari A, Javaheri A, Zare F. Oxidative stress-related effects on various aspects of endometriosis. *American J Rep Immunol*. 2022; 88 (3): e13593. DOI: 10.1111/aji.13593. PubMed PMID: 35781369.
13. Ni C, Li D. Ferroptosis and oxidative stress in endometriosis: A systematic review of the literature. *Medicine*. 2024; 103 (11): e37421. DOI: 10.1097/MD.00000000000037421. PMID: 38489713.
14. Kobayashi H, Yoshimoto C, Matsubara S, Shigetomi H, Imanaka S. Current understanding of and future directions for endometriosis-related infertility research with a focus on ferroptosis. *Diagnostics*. 2023; 13 (11): 1926. DOI: 10.3390/diagnostics13111926. PubMed PMID: 37296777.
15. Wyatt J, Fernando SM, Powell SG, Hill CJ, Arshad I, Probert C, et al. The role of iron in the pathogenesis of endometriosis: a systematic review. *Hum Reprod Open*. 2023; 2023 (3): hoad033. DOI: 10.1093/hropen/hoad033. PMID: 37638130.
16. Li Y, Zeng X, Lu D, Yin M, Shan M, Gao Y. Erastin induces ferroptosis via ferroportin-mediated iron accumulation in endometriosis. *Human Reproduction*. 2021; 36 (4): 951–64. DOI: 10.1093/humrep/deaa363. PubMed PMID: 33378529.
17. Li A, Ni Z, Zhang J, Cai Z, Kuang Y, Yu C. Transferrin insufficiency and iron overload in follicular fluid contribute to oocyte dysmaturity in infertile women with advanced endometriosis. *Front Endocrinol*. 2020; 11: 391. DOI: 10.3389/fendo.2020.00391. PubMed PMID: 32636803.
18. Jiang X, Stockwell BR, Conrad M. Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2021; 22 (4): 266–82. DOI: 10.1038/s41580-020-00324-8. PubMed PMID: 33495651.
19. Li G, Lin Y, Zhang Y, Gu N, Yang B, Shan S, et al. Endometrial stromal cell ferroptosis promotes angiogenesis in endometriosis. *Cell Death Discov*. 2022; 8 (1): 29. DOI: 10.1038/s41420-022-00821-z. PubMed PMID: 35039492.
20. Yi ZH, Li SQ, Ke JY, Wang Y, Zhao MZ, Li J, et al. Baicalein relieves ferroptosis-mediated phagocytosis inhibition of macrophages in ovarian endometriosis. *Curr Issues Mol Biol*. 2022; 44 (12): 6189–204. DOI: 10.3390/cimb44120422. PubMed PMID: 36547083.
21. Luo X, Wen S, Zeng J, Liu J, Ye W, Wu J, et al. AOPPs induces EMT and fibrosis by activating oxidative stress through ERK/p38 MAPK signaling pathway in endometriosis. *Reprod Biol*. 2024; 24 (4): 100950. DOI: 10.1016/j.repbio.2024.100950. PubMed PMID: 39241657.
22. Nanda A, K T, Banerjee P, Dutta M, Wangdi T, Sharma P, Chaudhury K, et al. Cytokines, angiogenesis, and extracellular matrix degradation are augmented by oxidative stress in endometriosis. *Ann Lab Med*. 2020; 40 (5): 390–7. DOI: 10.3343/alm.2020.40.5.390. PubMed PMID: 32311852.

References

1. Becker CM, Bokor A, Heikinheimo O, Home A, Jansen F, Kiesel L, et al. ESHRE guideline: endometriosis. *Human Reproduction Open*. 2022; 2022 (2): hoac009. DOI: 10.1093/hropen/hoac009. PubMed PMID: 35350465.
2. Amini L, Chekini R, Nateghi MR, Haghani H, Jamialahmadi T, Sathyapalan T, et al. The effect of combined vitamin C and vitamin E supplementation on oxidative stress markers in women with endometriosis: a randomized, triple-blind placebo-controlled clinical trial. *Pain Research and Management*. 2021; 2021: 1–6. DOI: 10.1155/2021/5529741. PubMed PMID: 34122682.
3. Chang L-Y, Hou X-X, Li D-J, Wang X-Q. Metabolite changes in patients with endometriosis: new potential diagnostic and therapeutic targets. *Reproductive and Developmental Medicine*. 2025; 09 (02): 108–18. DOI: 10.1097/RD9.000000000000122.
4. Song Y, Liu J, Qiu Z, Chen D, Luo C, Liu X, et al. Advanced oxidation protein products from the follicular microenvironment and their role in infertile women with endometriosis. *Exp Ther Med*. 2018; 15 (1): 479–86. DOI: 10.3892/etm.2017.5390. PubMed PMID: 29387200.
5. Santulli P, Chouzenoux S, Fiorese M, Marcellin L, Lemarechal H, Millischer AE, et al. Protein oxidative stress markers in peritoneal fluids of women with deep infiltrating endometriosis are increased. *Hum Reprod*. 2015; 30 (1): 49–60. DOI: 10.3892/etm.2017.5390. PubMed PMID: 25376454.
6. Tomkins NE, Girling JE, Boughton B, Holdsworth-Carson SJ. Is there a role for small molecule metabolite biomarkers in the development of a diagnostic test for endometriosis? *Systems Biology in Reproductive Medicine*. 2022; 68 (2): 89–112. DOI: 10.1080/19396368.2022.2027045. PubMed PMID: 35361022.
7. Российское общество акушеров-гинекологов. Эндометриоз. Клинические рекомендации. 2024. Доступно по ссылке: https://cr.minzdrav.gov.ru/preview-cr/259_2. Russian.
8. Andres MP, Casagrande De Camargo P, Orlandi CC, Silva MP, Ferreira AC, Azevedo RR et al. 12366 Surgical Outcomes of the National Training Program (PROAD) for minimally invasive surgery for endometriosis in Brazil. *Journal of Minimally Invasive Gynecology*. 2024; 31 (11): S152–S153. DOI: 10.1016/j.jmig.2024.09.969.
9. Фомина М. А., Абаленихина Ю. В. Способ комплексной оценки содержания продуктов окислительной модификации белков в тканях и биологических жидкостях: методические рекомендации. РИО РязГМУ, 2014; 60 с.
10. Assaf L, Eid AA, Nassif J. Role of AMPK/mTOR, mitochondria, and ROS in the pathogenesis of endometriosis. *Life Sciences*. 2022; 306: 120805. DOI: 10.1016/j.lfs.2022.120805. PubMed PMID: 35850246.

120805. DOI: 10.1016/j.lfs.2022.120805. PubMed PMID: 35850246.
11. Didziokaite G, Biliute G, Gudaite J, Kvedariene V. Oxidative stress as a potential underlying cause of minimal and mild endometriosis-related infertility. *IJMS*. 2023; 24 (4): 3809. DOI: 10.3390/ijms24043809. PubMed PMID: 36835217.
 12. Ansariya H, Yavari A, Javaheri A, Zare F. Oxidative stress-related effects on various aspects of endometriosis. *American J Rep Immunol*. 2022; 88 (3): e13593. DOI: 10.1111/aji.13593. PubMed PMID: 35781369.
 13. Ni C, Li D. Ferroptosis and oxidative stress in endometriosis: A systematic review of the literature. *Medicine*. 2024; 103 (11): e37421. DOI: 10.1097/MD.00000000000037421. PMID: 38489713.
 14. Kobayashi H, Yoshimoto C, Matsubara S, Shigetomi H, Imanaka S. Current understanding of and future directions for endometriosis-related infertility research with a focus on ferroptosis. *Diagnostics*. 2023; 13 (11): 1926. DOI: 10.3390/diagnostics13111926. PubMed PMID: 37296777.
 15. Wyatt J, Fernando SM, Powell SG, Hill CJ, Arshad I, Probert C, et al. The role of iron in the pathogenesis of endometriosis: a systematic review. *Hum Reprod Open*. 2023; 2023 (3): hoad033. DOI: 10.1093/hropen/hoad033. PMID: 37638130.
 16. Li Y, Zeng X, Lu D, Yin M, Shan M, Gao Y. Erastin induces ferroptosis via ferroportin-mediated iron accumulation in endometriosis. *Human Reproduction*. 2021; 36 (4): 951–64. DOI: 10.1093/humrep/deaa363. PubMed PMID: 33378529.
 17. Li A, Ni Z, Zhang J, Cai Z, Kuang Y, Yu C. Transferrin insufficiency and iron overload in follicular fluid contribute to oocyte dysmaturity in infertile women with advanced endometriosis. *Front Endocrinol*. 2020; 11: 391. DOI: 10.3389/fendo.2020.00391. PubMed PMID: 32636803.
 18. Jiang X, Stockwell BR, Conrad M. Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2021; 22 (4): 266–82. DOI: 10.1038/s41580-020-00324-8. PubMed PMID: 33495651.
 19. Li G, Lin Y, Zhang Y, Gu N, Yang B, Shan S, et al. Endometrial stromal cell ferroptosis promotes angiogenesis in endometriosis. *Cell Death Discov*. 2022; 8 (1): 29. DOI: 10.1038/s41420-022-00821-z. PubMed PMID: 35039492.
 20. Yi ZH, Li SQ, Ke JY, Wang Y, Zhao MZ, Li J, et al. Baicalein relieves ferroptosis-mediated phagocytosis inhibition of macrophages in ovarian endometriosis. *Curr Issues Mol Biol*. 2022; 44 (12): 6189–204. DOI: 10.3390/cimb44120422. PubMed PMID: 36547083.
 21. Luo X, Wen S, Zeng J, Liu J, Ye W, Wu J, et al. AOPPs induces EMT and fibrosis by activating oxidative stress through ERK/p38 MAPK signaling pathway in endometriosis. *Reprod Biol*. 2024; 24 (4): 100950. DOI: 10.1016/j.repbio.2024.100950. PubMed PMID: 39241657.
 22. Nanda A, K T, Banerjee P, Dutta M, Wangdi T, Sharma P, Chaudhury K, et al. Cytokines, angiogenesis, and extracellular matrix degradation are augmented by oxidative stress in endometriosis. *Ann Lab Med*. 2020; 40 (5): 390–7. DOI: 10.3343/alm.2020.40.5.390. PubMed PMID: 32311852.

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ ЭФФЕКТЫ ПЛАЦЕНТАРНОЙ КОНДИЦИОНИРОВАННОЙ СРЕДЫ И HLA-DR-ЗАВИСИМЫХ МЕХАНИЗМОВ ПРИ ПРЕЭКЛАМПСИИ У НОСИТЕЛЕЙ АЛЛЕЛЯ HLA-DRB1*01:01

Л. Е. Сорокина^{1,2}✉, Д. Н. Кокоева², Н. Е. Кан², И. И. Фомочкина¹¹ Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского, Симферополь, Россия² Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени В. И. Кулакова, Москва, Россия

Преэклампсию (ПЭ) рассматривают как одно из наиболее тяжелых осложнений беременности, в патогенезе которого существенную роль играют иммуногенетические факторы. Цель работы — оценить вклад HLA-DR-зависимых механизмов в регуляции иммунного ответа при ПЭ, ассоциированной с носительством аллеля HLA-DRB1*01:01 в экспериментальной модели *in vitro*. Выполнено экспериментальное сравнительное *in vitro* исследование. Включены пациентки с ПЭ ($n = 7$), являющиеся носителями HLA-DRB1*01:01, и женщины с физиологическим течением беременности (ФБ; $n = 10$), не являющиеся носительницами HLA-DRB1*01:01, -DRB1*04:01, -DRB1*10:01. Из образцов периферической крови выделяли клетки CD14⁺ и CD4⁺, а также образцы плацентарной ткани, из которых получали плацентарную кондиционированную среду (ПКС). В обеих группах осуществляли ко-культивирование клеток CD14⁺ и CD4⁺. Для моделирования влияния плацентарных факторов в культуру добавляли ПКС. В группе ПЭ проводили блокирование HLA-DR моноклональными антителами L243, в группе ФБ использовали изотипические антитела IgG2a. Долю Treg-клеток в культурах определяли методом проточной цитометрии, концентрации IL17, IFN γ , TNF α , IL10 и IL4 — методом ИФА. При прямом ко-культивировании клеток CD14⁺ и CD4⁺ различий между группами по доле Treg и концентрации цитокинов не обнаружено. Добавление ПКС в группе ПЭ приводило к снижению доли Treg и уровня IL10 на фоне повышения IL17, TNF α и IFN- γ . В группе ФБ, напротив, отмечалось повышение числа Treg, IL10 и IL4 с одновременным снижением IFN- γ . Блокирование HLA-DR при ПЭ сопровождалось снижением IL17 и IFN- γ . Полученные результаты демонстрируют потенциальную значимость плацентарных факторов и иммуногенетических особенностей матери в регуляции иммунного ответа при ПЭ.

Ключевые слова: преэклампсия, физиологическое течение беременности, ось Th1/Th2/Th17/Treg, аллель HLA-DRB1*01:01, плацентарные факторы, *in vitro*

Вклад авторов: Л. Е. Сорокина — сбор, анализ и интерпретация данных, подготовка статьи; Д. Н. Кокоева — сбор, анализ и интерпретация данных, написание статьи; Н. Е. Кан — организация и координация исследования, утверждение окончательной версии статьи; И. И. Фомочкина — замысел и дизайн исследования, подготовка статьи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом НМИЦ АГП имени В. И. Кулакова (протокол № 11 от 11 ноября 2021 г.).

✉ **Для корреспонденции:** Лейа Евгеньевна Сорокина
ул. Академика Опарина, д. 4, г. Москва, 117198, Россия; leya.sorokina@mail.ru

Статья получена: 10.05.2026 **Статья принята к печати:** 20.06.2026 **Опубликована онлайн:** 28.06.2026

DOI: 10.24075/vrgmu.2026.036

Авторские права: © 2026 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/>).

IMMUNOMODULATORY EFFECTS OF THE PLACENTAL CONDITIONED MEDIUM AND HLA-DR-DEPENDENT MECHANISMS IN CARRIERS OF THE HLA-DRB1*01:01 ALLELES WITH PREECLAMPSIA

Sorokina LE^{1,2}✉, Kokoeva DN², Kan NE², Fomochkina II¹¹ Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia² Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russia

Preeclampsia (PE) is considered as one of the most severe pregnancy complications, an important role in pathogenesis of which is played by immunogenetic factors. The study aimed to assess the contribution of HLA-DR-dependent mechanisms to the immune response regulation in PE associated with the HLA-DRB1*01:01 allele carrier state in an *in vitro* experimental model. A comparative experimental *in vitro* study was conducted. Patients with PE ($n = 7$), who were HLA-DRB1*01:01 carriers, and women with the normal pregnancy course (NP; $n = 10$), who were not HLA-DRB1*01:01, -DRB1*04:01, -DRB1*10:01 carriers, were enrolled. The CD14⁺ and CD4⁺ cells, as well as placental tissue samples, from which the placental conditioned medium (PCM) was derived, were obtained from peripheral blood samples. The CD14⁺ and CD4⁺ cells were co-cultured in both groups. PCM was added to the culture to model the effects of placental factors. In the PE group, HLA-DR was blocked with the L243 monoclonal antibody; the IgG2a isotype antibody was used in the NP group. The share of Treg-cells in the cultures was determined by flow cytometry; the IL17, IFN- γ , TNF α , IL10, and IL4 concentrations were determined by ELISA. The direct CD14⁺ and CD4⁺ co-culture revealed no intergroup differences in the share of Treg and cytokine concentrations. The PCM supplementation in the PE group resulted in the decreased share of Treg and IL10 levels amid increasing IL17, TNF α , and IFN- γ . In the NP group, on the contrary, the increase in Treg counts, IL10 and IL4 levels, along with the decrease in IFN- γ levels was reported. The HLA-DR blockage in PE was associated with the decrease in IL17 and IFN- γ levels. The findings demonstrate the potential significance of placental factors and maternal immunogenetic features in the immune response regulation in PE.

Keywords: preeclampsia, normal pregnancy course, Th1/Th2/Th17/Treg axis, HLA-DRB1*01:01 allele, placental factors, *in vitro*

Author contribution: Sorokina LE — data acquisition, analysis, and interpretation, manuscript writing; Kokoeva DN — data acquisition, analysis and interpretation, manuscript writing; Kan NE — organization and coordination of research, and approval of the final version of the article; Fomochkina II — study concept and design, manuscript writing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology (protocol No. 11 dated November 11, 2021).

✉ **Correspondence should be addressed:** Leya E. Sorokina
Akademika Oparina, 4, Moscow, 117198, Russia; leya.sorokina@mail.ru

Received: 10.05.2026 **Accepted:** 20.06.2026 **Published online:** 28.06.2026

DOI: 10.24075/brsmu.2026.036

Copyright: © 2026 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/>).

Преэклампсия (ПЭ) остается одним из самых серьезных осложнений беременности, обуславливающих высокую материнскую и перинатальную заболеваемость и смертность во всем мире [1]. Хотя точные механизмы развития ПЭ до сих пор не известны, результаты многочисленных исследований убедительно указывают на важную роль нарушений иммунологической регуляции [2, 3]. Считается, что нарушение формирования толерантности к отцовским/фетальным антигенам приводит к смещению иммунологического гомеостаза на материнско-фетальном интерфейсе в сторону провоспалительного статуса [4]. Одним из ключевых механизмов иммунной дисрегуляции при ПЭ является нарушение равновесия между эффекторными субпопуляциями Т-хелперов (Т helpers, Th) — Th1, Th2, Th17 и регуляторными Т-клетками (regulatory T cells, Treg), определяющими формирование толерогенной среды на границе «мать–плод» [5].

Показано, что развитие ПЭ ассоциировано с накоплением в периферической крови и ткани плаценты Th1- и Th17-клеток, продуцирующих провоспалительные цитокины, в том числе интерлейкины (interleukin, IL) — IL1, IL6, IL17, фактор некроза опухоли альфа (tumor necrosis factor α , TNF α) и интерферон гамма (interferon γ , IFN- γ), относящиеся к числу ключевых модуляторов воспаления. При исследовании цитокинового профиля при ПЭ также обращает на себя внимание снижение концентрации противовоспалительных молекул IL4 и IL10, продуцируемых Th2- и Treg-клетками [6–8]. Важной составляющей ПЭ является снижение численности и функциональной активности Treg, которые, обладая выраженными иммунорегуляторными свойствами, играют ключевую роль в обеспечении иммунологической защиты полуаллогенного плода от атаки со стороны иммунной системы матери [9]. Существенный вклад нарушения иммунологической толерантности подтверждается совокупностью накопленных данных, свидетельствующих о повышении соотношения Th17/Treg у женщин с ПЭ [10].

Несмотря на значительный прогресс в понимании иммунопатогенеза ПЭ, вопрос о пусковых механизмах, инициирующих формирование иммунной дисрегуляции, остается открытым. Предполагается, что существенный вклад в развитие нарушений врожденного и адаптивного звеньев иммунитета при ПЭ вносит измененный секреторный профиль трофобласта [11]. Результаты многочисленных исследований свидетельствуют об изменении состава и концентрации фетоплацентарных белков, цитокинов, хемокинов, факторов роста, внеклеточных везикул и других компонентов плацентарного секрета на маточно-фетальном интерфейсе [12–17]. Данные биологически активные молекулы способны оказывать как прямое, так и опосредованное воздействие на различные популяции иммунокомпетентных клеток, модулируя их фенотипические и функциональные характеристики и тем самым определяя направленность иммунного ответа при ПЭ.

Еще одними важными кандидатами для поиска патогенетически обоснованных ассоциаций признаны гены системы человеческих лейкоцитарных антигенов (HLA), играющие важную роль в регуляции распознавания чужеродных агентов и формировании иммунологических реакций [18]. Чрезвычайно высокий полиморфизм системы HLA обуславливает структурное разнообразие ее белковых молекул, различающихся по способности связывать и презентировать антигены, что, в свою очередь, определяет специфику и степень выраженности

последующих Т-клеточных иммунных ответов. В ряде публикаций показана взаимосвязь носительства женщиной аллелей локуса HLA-DRB1 (DRB1*01:01, DRB1*04:01 или DRB1*10:01), кодирующих определенную аминокислотную последовательность — «shared epitope» с репродуктивными нарушениями и акушерскими патологиями, включая ПЭ [19–22]. Результаты недавнего исследования указывают на положительную ассоциацию аллельного варианта HLA-DRB1*01:01 с риском развития ПЭ [23].

Исходя из современных представлений о роли молекул HLA класса II в регуляции Т-клеточного иммунного ответа, можно предположить, что носительство аллеля HLA-DRB1*01:01 может быть связано с особенностями антигенпрезентации плацентарных антигенов. Потенциальные различия в репертуаре представляемых пептидов способны оказывать влияние на характер активации CD4⁺-Т-клеток, что способствует преимущественной поляризации иммунного ответа в направлении Th1/Th17 и снижению индукции иммунорегуляторных Treg-клеток. Указанные изменения, вероятно, могут быть рассмотрены как один из механизмов формирования провоспалительного смещения иммунного гомеостаза при ПЭ.

Цель настоящей работы — оценить вклад HLA-DR-зависимых механизмов в регуляцию иммунного ответа при ПЭ, ассоциированной с носительством аллеля HLA-DRB1*01:01 в экспериментальной модели *in vitro*.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

В представленной экспериментальной работе *in vitro* оценивали изменения содержания Treg-клеток, а также концентрации про- и противовоспалительных цитокинов при стимуляции наивных CD4⁺-Т-лимфоцитов антигенпрезентирующими клетками, экспрессирующими определенные аллельные варианты HLA класса II и плацентарными факторами. Дизайн исследования представлен на рис. 1.

Образцы плацентарной ткани и периферической крови пациенток с ПЭ (основная группа, $n = 7$) и физиологическим течением беременности, или ФБ (группа сравнения, $n = 10$) были получены из акушерских отделений ФГБУ «НМИЦ АГП имени В. И. Кулакова» Минздрава России. Включенные в исследование пациентки были сопоставимы по возрасту, коморбидным состояниям, основным факторам риска.

Появление клинических симптомов ПЭ в основной группе зарегистрировано в среднем в 34,5 (31,25–36,75) недели. По степени тяжести умеренная ПЭ диагностирована у 6 (85,7%) пациенток, тяжелая — у 1 (14,3%). Средний срок родоразрешения в основной группе составил 38,2 (36,0; 39,96) недели, в группе сравнения — 40 (39,18; 40,54) недель. Преждевременное родоразрешение имело место у 2 (28,6%) пациенток с ПЭ.

Критерии включения в основную группу: возраст женщин 18–45 лет; одноплодная беременность; текущая беременность, осложненная развитием ПЭ; носительство аллеля HLA-DRB1*01:01, подтвержденное методом полимеразной цепной реакции (ПЦР); добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии включения в группу сравнения: возраст женщин 18–45 лет; одноплодная беременность; текущая неосложненная беременность; отсутствие носительства аллелей DRB1*01:01, DRB1*04:01 или DRB1*10:01, подтвержденное ПЦР; добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

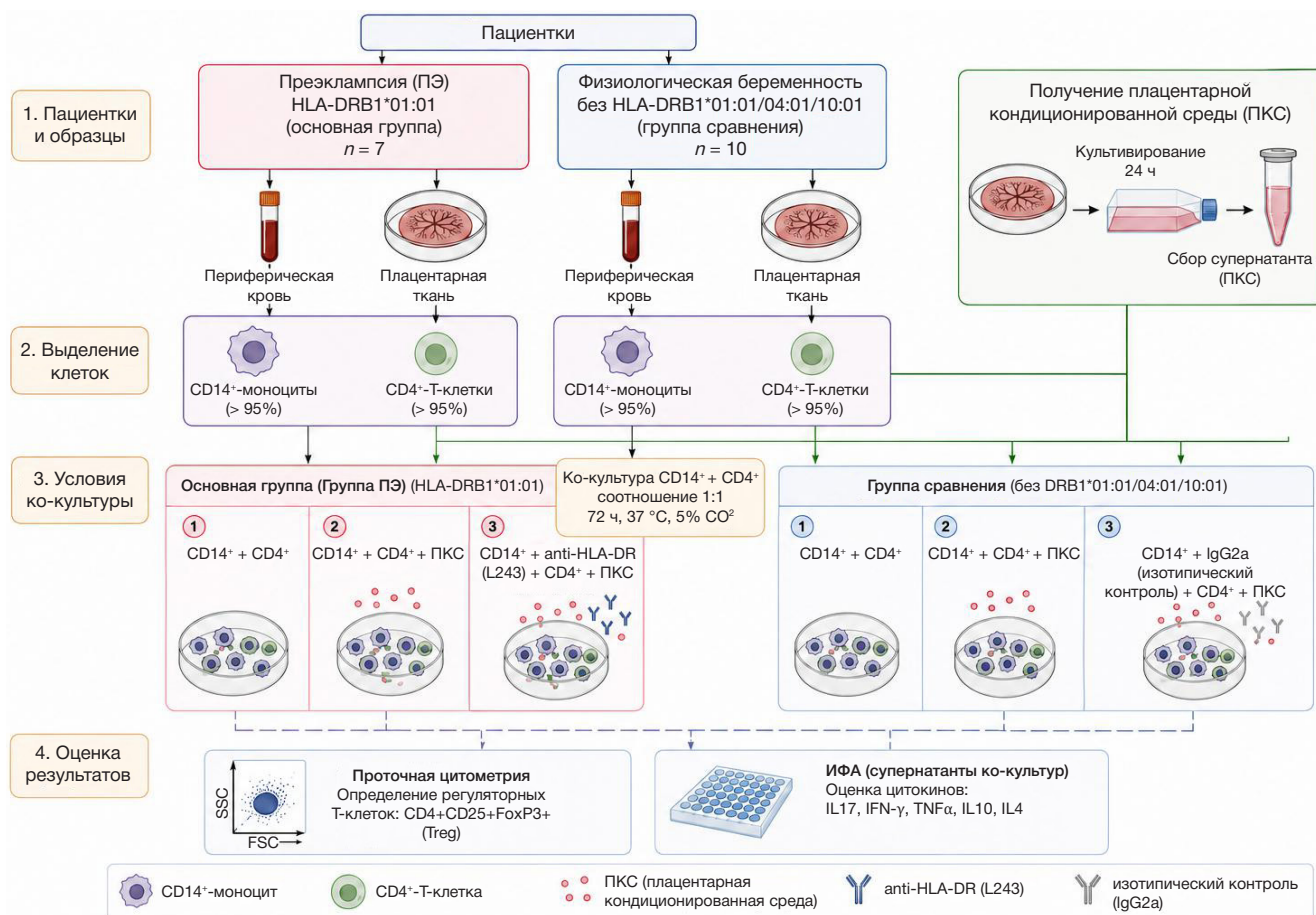


Рис. 1. Схема дизайна исследования. Из периферической крови беременных женщин выделяли $CD14^+$ -моноциты и $CD4^+$ -Т-лимфоциты. Плацентарную кондиционированную среду (ПКС) получали путем культивирования эксплантов плацентарной ткани в течение 24 ч. Клетки ко-культивировали в различных экспериментальных условиях с последующей оценкой содержания $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ -Treg-клеток методом проточной цитометрии и концентрации цитокинов в супернатантах методом ИФА

Критерии исключения: возраст женщин младше 18 и старше 45 лет; многоплодная беременность; беременность, наступившая в результате вспомогательных репродуктивных технологий; тяжелая экстрагенитальная патология; наличие хронических инфекционных, онкологических, системных аутоиммунных заболеваний; отказ от участия в исследовании.

Получение кондиционированной среды плаценты

Забор образцов ткани плаценты осуществляли непосредственно после родоразрешения. Фрагменты ворсинчатого хориона из центральной части плацент промывали стерильным фосфатно-солевым буфером с добавлением 5% пенициллина/стрептомицина и подвергали механическому измельчению. Полученную тканевую массу культивировали в шестилуночных культуральных планшетах (Wuxi NEST Biotechnology, Ltd., Китай) с добавлением 3 мл среды ImmunoCult™-XF (StemCell Technologies, Канада) в течение 24 ч в условиях CO_2 -инкубатора. Спустя сутки осуществляли сбор плацентарной кондиционированной среды (ПКС). ПКС, содержащая широкий спектр плацентарных биологически активных молекул, включая цитокины, хемокины, факторы роста, плацентарные белки, внеклеточные везикулы и молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением (DAMP), использовали в качестве интегральной экспериментальной модели плацентарного секретата, отражающей комплексное воздействие плацентарных факторов на клетки иммунной системы матери.

Выделение $CD14^+$ -моноцитов и $CD4^+$ -Т-клеток периферической крови

Забор цельной периферической крови производили на следующие сутки после родоразрешения в пробирки с антикоагулянтом K3EDTA (Greiner Bio One, Австрия).

Выделение клеток $CD14^+$ и $CD4^+$ из фракции мононуклеарных клеток периферической крови (peripheral blood mononuclear cells, PBMC) осуществляли методом магнитной сепарации (позитивная селекция) с использованием наборов Human $CD14^+$ Cell Separation Kit и Human $CD4^+$ Cell Separation Kit (RWD Life Science, Китай) в соответствии с инструкциями производителя. Чистоту полученных популяций контролировали с помощью лазерной проточной цитометрии по экспрессии типичных молекул и отсутствию линейных маркеров других групп клеток. В работе использовали популяции с чистотой не менее 95%.

Условия ко-культивирования клеток

В первой серии экспериментов в обеих группах осуществляли культивирование выделенных $CD14^+$ -моноцитов (2×10^5 клеток) совместно с $CD4^+$ -Т-клетками (2×10^5 клеток) в соотношении 1 : 1 в 24-луночных культуральных планшетах (Wuxi NEST Biotechnology, Ltd., Китай) с добавлением 1 мл среды RPMI-1640 («ПанЭко», Россия), содержащей 10% фетальной бычьей сыворотки (FBS) (Biowest, Франция).

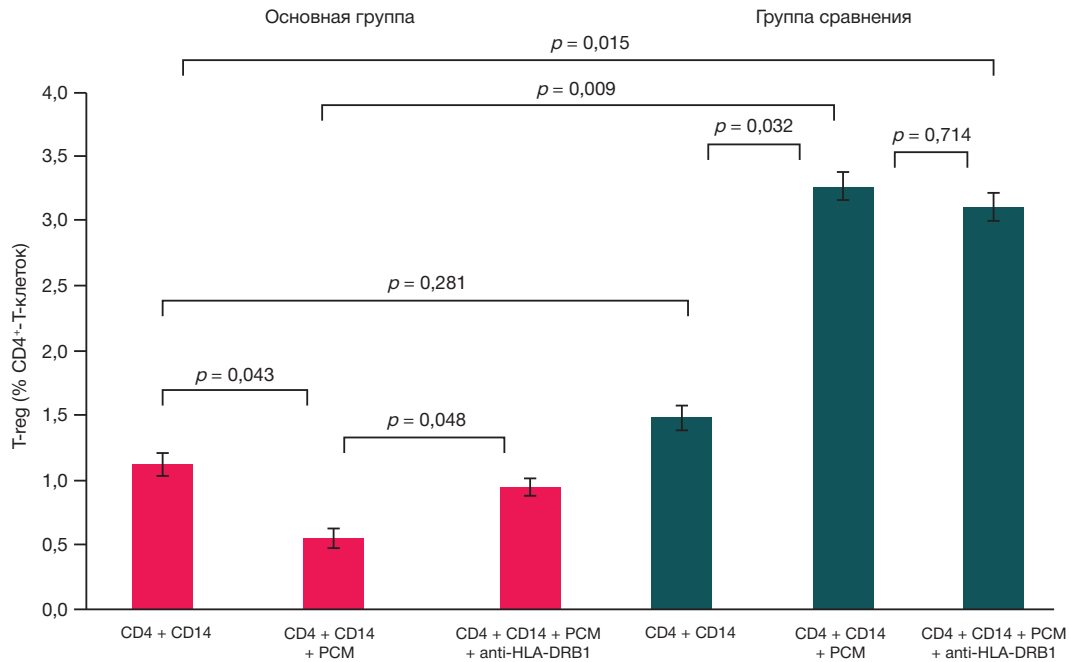


Рис. 2. Доля CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺-Treg-клеток среди CD4⁺-Т-лимфоцитов при различных условиях ко-культуры в основной группе и группе сравнения. Данные представлены в виде Me (Q₁-Q₃). Для сравнения независимых групп использовали непараметрический критерий Манна-Уитни, для связанных выборок при внутригрупповом сравнении применяли критерий Уилкоксона

Для воспроизведения условий активации Т-лимфоцитов *in vitro* использовали частицы ImmunoCult™ Human CD3/CD28 T Cell Activator (StemCell Technologies, Канада) в концентрации 25 мкл/мл, обеспечивающие передачу сигналов через TCR-комплекс и костимулирующий рецептор CD28, необходимые для полноценной активации и функционального ответа Т-клеток. Ко-культивирование осуществляли в течение 3 суток в условиях CO₂-инкубатора.

Во второй серии экспериментов для стимуляции МНС II-зависимой активации CD4⁺-Т-клеток в систему совместного культивирования добавляли 100 мкл ПКС, полученных от тех же пациенток.

В третьей серии экспериментов с целью блокирования МНС II/HLA-DR-зависимой презентации антигена в контрольной серии экспериментов моноциты CD14⁺, полученные от пациенток основной группы, предварительно инкубировали с очищенными моноклональными антителами к HLA-DR человека (клон L243; Thermo Fisher Scientific, США) в концентрации 10 мкг/мл в течение 60 мин перед совместным культивированием с аутологичными Т-клетками CD4⁺. Антитела присутствовали в культуре на протяжении всего периода стимуляции. В случае контрольных экспериментов в группе сравнения в качестве изотипического контроля использовали Mouse IgG2a (GeneTex, США) в той же концентрации. Изотипический контроль использовали для исключения неспецифического влияния иммуноглобулинов на функциональную активность клеток.

Проточная цитометрия

Для идентификации субпопуляции Treg-клеток использовали следующие моноклональные антитела: APC anti-human CD4 (клон RPA-T4), PE anti-human CD25 (клон BC96) и FITC anti-human FoxP3 (клон 206D). Окрашивание мембранных белков проводили в течение 30 мин при температуре 4 °С. Окрашивание внутриклеточных белков выполняли в течение 60 мин при 4 °С после обработки коммерческими реагентами для фиксации и пермеабелизации True-Nuclear™

Transcription Factor Buffer Set (Biolegend, США). Все измерения методом проточной цитометрии выполняли на приборе BD FACSCalibur (BD Biosciences, США).

Иммуноферментный анализ

Определение уровня продукции цитокинов осуществляли методом твердофазного иммуноферментного анализа «сэндвич»-типа. Концентрации IL17, IFN-γ, TNFα, IL10 и IL4 в средах количественно определяли с помощью соответствующих коммерческих тест-систем согласно инструкциям производителя («Вектор-Бест», РФ).

Статистическая обработка данных

Статистический анализ данных проводили с использованием программной среды R (версия 4.1.3). Предварительно оценивали распределение количественных переменных с помощью критерия Шапиро-Уилка и визуального анализа. Учитывая малый объем выборки и отклонения от нормального распределения, количественные данные представляли в виде медианы (Me) и межквартильного интервала (Q₁-Q₃). Для сравнения независимых групп использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Для анализа различий между условиями культивирования внутри одной группы (парные наблюдения) применяли критерий Уилкоксона для связанных выборок. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка содержания CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺-Treg-клеток

Результаты анализа содержания CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺-Treg-клеток в различных условиях ко-культуры представлены на рис. 2.

Прямое совместное культивирование CD14⁺-моноцитов с CD4⁺-Т-клетками не продемонстрировало статистически значимых различий по характеру Т-клеточного ответа

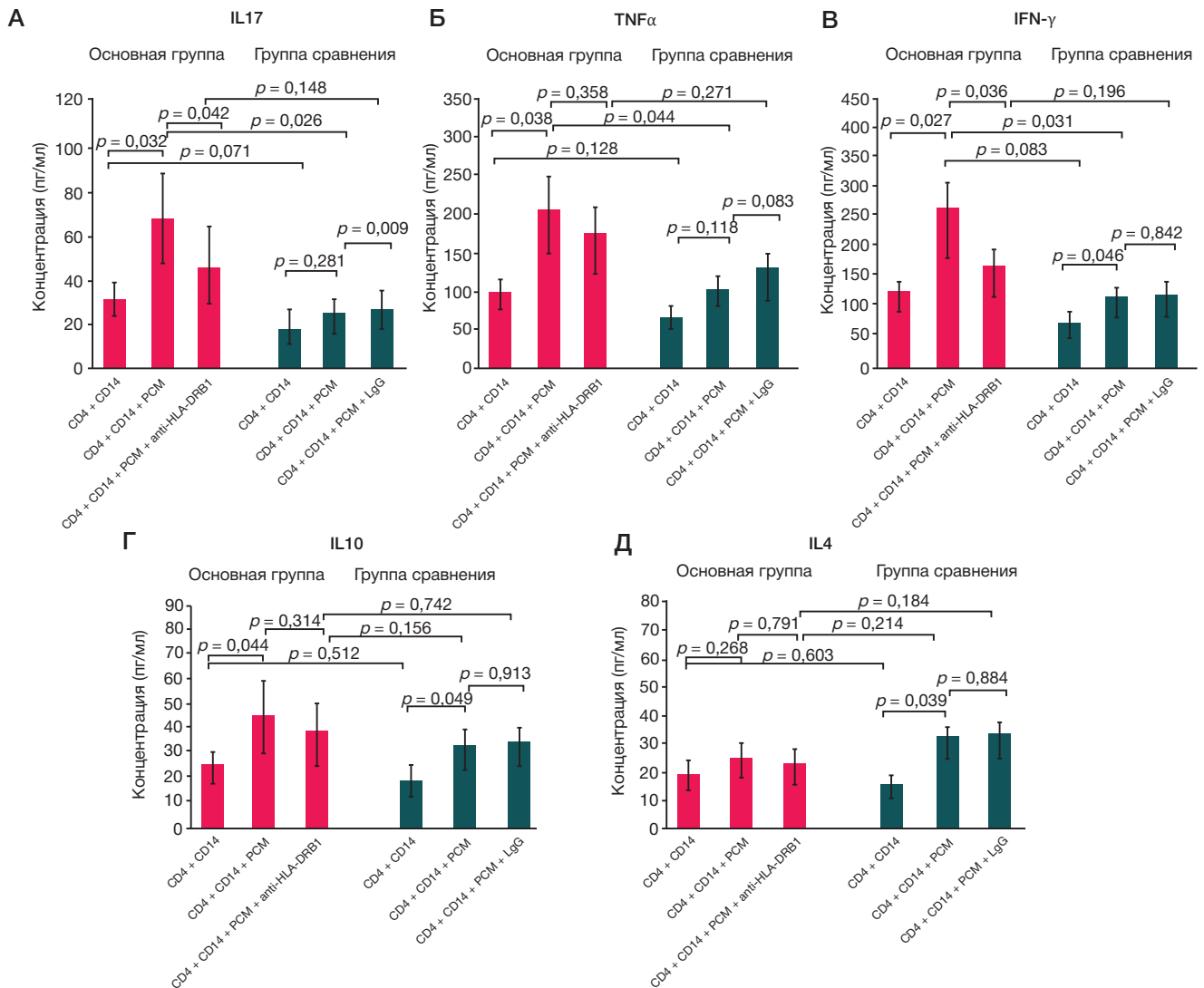


Рис. 3. Цитокиновый профиль супернатанта при различных условиях ко-культуры. Представлены уровни IL17 (А), TNFα (Б), IFN-γ (В), IL10 (Г) и IL4 (Д) в основной группе и группе сравнения. Данные представлены в виде Ме (Q₁-Q₃). Для сравнения независимых групп использовали непараметрический критерий Манна-Уитни, для связанных выборок при внутригрупповом сравнении применяли критерий Уилкоксона

в исследуемых группах. Доля Treg-клеток от популяции CD4⁺-Т-клеток в основной группе составила 1,12%, в группе сравнения — 1,49% ($p = 0,281$). После добавления ПКС относительное количество Treg-клеток в основной группе снизилось до 0,53% ($p = 0,043$), а в группе сравнения, напротив, статистически значимо увеличилось до 3,26% ($p = 0,032$). Эти данные свидетельствуют о разнонаправленной модуляции Т-клеточного ответа плацентарными факторами при ПЭ и при ФБ ($p = 0,009$). Добавление в систему совместного культивирования anti-HLA-DRB1 антител в основной группе изменяло распределение клеток по CD25/Foxp3 и приводило к статистически значимому увеличению доли Treg-клеток по сравнению с условием CD14⁺+CD4⁺+ПКС ($p = 0,048$). Внесение изотипического контроля в ко-культуру в группе сравнения сопровождалось снижением относительного количества Treg-клеток, однако не достигающим статистической значимости ($p = 0,714$).

Изучение особенностей цитокинового профиля

На рис. 3 представлены результаты оценки про- и противовоспалительных цитокинов в различных условиях ко-культуры.

Совместное культивирование CD14⁺-моноцитов и CD4⁺-Т-клеток в основной группе характеризовалось тенденцией к увеличению уровня провоспалительных цитокинов IL17 ($p = 0,071$), TNFα ($p = 0,128$), IFN-γ ($p = 0,083$) и снижению концентрации противовоспалительных — IL10 ($p = 0,512$) и IL4 ($p = 0,603$) по сравнению с аналогичным экспериментом в группе сравнения. Добавление в основную группу ПКС к ко-культуре иммуоцитов привело к статистически значимому повышению концентрации IL17 ($p = 0,032$), TNFα ($p = 0,038$), IFN-γ ($p = 0,027$) на фоне снижения IL10 ($p = 0,044$), что может отражать смещение иммунологических реакций в сторону провоспалительного фенотипа при ПЭ. Напротив, в условиях эксперимента CD14⁺+CD4⁺+ПКС в группе сравнения отмечалось статистически значимое повышение концентрации иммунорегуляторных молекул IL10 ($p = 0,049$), IL4 ($p = 0,039$) с одновременным снижением воспалительного цитокина IFN-γ ($p = 0,046$). Обращают на себя внимание выраженные межгрупповые различия в отношении всех изучаемых цитокинов при добавлении плацентарных факторов, что в совокупности с разнонаправленностью изменений указывает на ключевое значение в модуляции иммунного ответа при беременности. Блокирование HLA-DRB1*01:01 в основной группе приводило к статистически значимому снижению уровней

IL17 и IFN- γ , что указывает на МНС II-зависимый механизм их продукции. В то же время добавление контрольного IgG в группе сравнения оказывало влияние на цитокиновый профиль по сравнению с условием CD4⁺CD14⁺ПКС.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

На сегодняшний день множество биомедицинских исследований сфокусированы на роли молекул HLA класса II в репродуктивной иммунологии. Описано множество примеров ассоциации носительства аллелей локуса HLA-DRB1, кодирующих определенную аминокислотную последовательность — «shared epitope» с репродуктивными нарушениями и акушерскими патологиями, включая ПЭ [12–22]. Молекулярные механизмы этих ассоциаций остаются недостаточно изученными. Современные представления о механизмах антигенпрезентации позволяют выдвинуть гипотезу о HLA-опосредованной природе ПЭ. Генетические вариации комплекса HLA и связанных с ним рецепторных систем могут влиять на эффективность распознавания и презентации фетальных антигенных комплексов, что способствует дисрегуляции Т-клеточного иммунного ответа. Следует отметить, что, как и при многих других патологических состояниях, потенциальный целевой антиген при развитии ПЭ до настоящего времени не идентифицирован. Кроме того, как обсуждалось ранее, МНС II-зависимая антигенпрезентация может быть не единственной механистической основой ассоциации молекул HLA с иммунной дисрегуляцией при данном осложнении беременности [24].

Чтобы определить вклад материнских иммуногенетических факторов в развитие осложнений беременности, мы провели серию экспериментов по изучению влияния аллеля HLA-DRB1*01:01, экспрессирующегося на поверхности антигенпрезентирующих клеток, на дисбаланс иммунорегуляторной оси Th1/Th2/Th17/Treg при ПЭ и ФБ.

Принимая во внимание ключевую роль моноцитов в регуляции провоспалительных и противовоспалительных процессов, в своем исследовании мы сосредоточились на этих клетках. В исследовании использовали CD14⁺ моноциты, полученные от пациенток с преэклампсией и физиологической беременностью. Экспрессируемые на поверхности моноцитов молекулы HLA-DRB1 различались между собой лишь тремя аминокислотными остатками в третьей гипервариабельной области (TAHR) цепи DR β .

При совместном культивировании CD14⁺-моноцитов (экспрессирующих мотив SE 70-QKRAA-74 в TAHR цепи DR β) и CD4⁺-Т-клеток, полученных от пациенток с ПЭ, последние демонстрировали тенденцию к формированию провоспалительного иммунного ответа. В то же время в аналогичных экспериментах с CD14⁺-моноцитами, полученными от женщин группы сравнения (экспрессирующих последовательность 70-DERAA-74), CD4⁺-Т-клетки проявляли преимущественно иммунорегуляторный потенциал. Следует учитывать, что особенность дизайна настоящего исследования не позволяет определить приоритетность значения аллеля HLA-DRB1*01:01 в развитии иммунологических изменений при ПЭ. В этой связи наблюдаемые эффекты могут отражать как влияние HLA-генотипа, так и особенности иммунной регуляции, обусловленные ПЭ. Указанное обстоятельство определяет необходимость проведения дальнейших исследований с включением дополнительных групп сравнения для более точной интерпретации полученных данных. Ряд авторов указывает

на активированное состояние моноцитов у пациенток с ПЭ по сравнению с моноцитами, полученными у женщин с ФБ [25, 26]. Результаты одного из экспериментальных исследований демонстрируют, что дендритные клетки, полученные из моноцитов периферической крови женщин с ПЭ обладают повышенной способностью индуцировать дифференцировку CD4⁺-Т-клеток в направлении Th1 и Th17, в том числе за счет усиленной экспрессии ко-стимуляторных молекул и повышенной секреции IL23 [27].

С целью изучения функциональной значимости HLA-опосредованной презентации плацентарных антигенов в формировании иммунного ответа при беременности в следующей серии экспериментов осуществляли ко-культивирование моноцитов с CD4⁺-Т-клетками в присутствии плацентарных факторов. Следует учитывать, что используемая в настоящем исследовании ПКС представляет собой сложный биологический субстрат, включающий широкий спектр факторов, в том числе, провоспалительные цитокины, антиангиогенные молекулы, внеклеточные везикулы и молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением (DAMP), а также специфические фетоплацентарные белки. Стоит отметить, что именно нарушение плацентарного метаболизма рассматривается рядом исследователей как ключевой компонент патогенеза ПЭ. Доказано центральное значение ангиогенных факторов, включая растворимую fms-подобную тирозинкиназу-1 (sFlt-1), плацентарный фактор роста (PlGF) и растворимый эндоглин (sEng), дисбаланс которых способствует формированию эндотелиальной дисфункции и системного воспалительного ответа [12]. Особого внимания заслуживают данные о фетоплацентарных белках, нарушение продукции которых при ПЭ может способствовать развитию иммунной дисрегуляции и формированию провоспалительного микроокружения на материнско-фетальном интерфейсе. Установлено, что снижение продукции хорионического гонадотропина человека (hCG) ассоциировано с уменьшением содержания маточных и периферических Treg-клеток, а также нарушением регуляции популяции маточных естественных киллеров (uNK-клеток) [13, 14]. К числу важных иммунорегуляторных факторов относятся также белки гликоделин А и α -фетопротейн. Показано, что гликоделин А ингибирует пролиферацию и цитотоксическую активность Т-лимфоцитов и модулирует функции дендритных клеток [15, 16], тогда как α -фетопротейн способен регулировать активность лимфоцитов и антигенпрезентирующих клеток, внося вклад в поддержание иммунного гомеостаза в системе «мать–плод» [17, 18].

В связи с этим наблюдаемые эффекты ПКС на Т-клеточный ответ, вероятно, обусловлены совокупным действием различных компонентов, способных оказывать влияние как на антигенпрезентирующие клетки, так и непосредственно на Т-лимфоциты. В случае ПЭ совместное культивирование иммунных клеток в ПКС еще больше усиливало смещение иммунного ответа в сторону провоспалительного иммунного ответа, что подтверждалось статистически значимым увеличением концентрации цитокинов TNF α , IFN- γ и IL17. Напротив, число Treg-клеток, а также концентрация иммунорегуляторного IL10 достоверно снизились по сравнению с аналогичным экспериментом без РСМ. Согласно современным представлениям, плацентарные факторы играют ключевую роль в регуляции иммунной микросреды в период гестации. При ПЭ, в условиях плацентарной ишемии, активируются молекулярные сигнальные пути, инициирующие

массивное высвобождение молекулярных фрагментов, ассоциированных с повреждениями (DAMP), внеклеточных везикул и антиангиогенных факторов, которые в свою очередь способствуют активации компонентов врожденного иммунитета матери и каскадному усилению воспаления [2]. Продемонстрировано, что микрочастицы мембран синцитиотрофобласта (syncytiotrophoblast membrane microparticles, STBM), выделенные *in vitro* из плацент пациенток с ПЭ, индуцируют активацию моноцитов, повышая экспрессию CD54 и стимулируя продукцию провоспалительных IL6 и IL8. Указанные данные свидетельствуют о потенциальной роли плацентарных микрочастиц в формировании системного воспалительного ответа у матери при ПЭ [28].

Проводимое в рамках текущей экспериментальной работы ко-культивирование иммуноцитов с ПКС, выделенных от пациенток группы сравнения, напротив, сопровождалось увеличением числа Treg-клеток, повышением уровня IL4 и IL10 на фоне статистически значимого уменьшения IFN- γ по сравнению с аналогичным экспериментом в основной группе. Полученные результаты указывают на снижение соотношений Th1/Th2 и Th17/Treg, ассоциированное с формированием толерогенной иммунной микросреды, которая играет ключевую роль в поддержании физиологического течения беременности [29]. С учетом статистически значимых внутригрупповых различий в экспериментах с добавлением ПКС и без него, очевидным становится важный вклад плацентарных факторов. В одной из работ были получены сопоставимые с нашими результаты о том, что экзосомы, выделенные из плаценты в I триместре беременности (pEXO), индуцируют «перепрограммирование» иммунного ответа на системном уровне путем модуляции фенотипа/функций моноцитов и Т-клеток. Согласно данным авторов, pEXO способствовали индукции M2-подобной поляризации макрофагов с повышенной экспрессией CD163, CD206, CD209, IL10 и IDO-1 и сниженным секреторным потенциалом в отношении провоспалительных цитокинов IFN- γ и TNF α . Кроме того, в условиях ко-культуры моноциты, предварительно экспонированные pEXO, индуцировали двукратное увеличение частоты CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺-Treg, что свидетельствует о функциональной роли pEXO-опосредованного перепрограммирования моноцитов в регуляции Т-клеточного ответа и поддержании толерогенной иммунной микросреды при физиологической беременности. Вероятным механизмом данного эффекта может быть повышение экспрессии PD-L1 на поверхности моноцитов, однако для подтверждения причинной роли такого пути в индукции Treg необходимы дополнительные экспериментальные подтверждения [30].

Блокировка HLA-DRB1*01:01 при ПЭ в нашем эксперименте сопровождалась статистически значимым снижением концентрации IL17 и IFN- γ по сравнению с аналогичным экспериментом без добавления блокирующего антитела. Полученные данные указывают на возможную роль материнских иммуногенетических факторов, включая носительство аллеля HLA-DRB1*01:01, относящегося к группе аллелей «shared еpitope», в регуляции иммунного взаимодействия на материнско-фетальном интерфейсе. Выявленное снижение уровней IL17 и IFN- γ можно рассматривать как косвенный признак изменения антиген-презентирующей функции клеток врожденного иммунитета, в том числе MHC II/HLA-DR-зависимой активации CD4⁺ Т-клеток [31]. При интерпретации результатов, полученных

при блокировании HLA-DR, следует учитывать, что используемые моноклональные антитела направлены против молекул HLA-DR в целом и не обладают аллель-специфичностью. В связи с этим наблюдаемые изменения цитокинового профиля, вероятно, отражают вклад MHC II-зависимой антигенпрезентации в регуляцию Т-клеточного ответа. Вместе с тем полученные данные не позволяют однозначно отнести выявленные эффекты исключительно к влиянию аллеля HLA-DRB1*01:01, что требует дальнейших исследований для уточнения его специфической роли. В отличие от цитокинов, связанных преимущественно с MHC II-зависимой активацией CD4⁺-Т-клеток, относительное сохранение повышенного уровня TNF α может быть обусловлено прямой активацией моноцитов плацентарными факторами, а также дополнительной Fc γ R-опосредованной стимуляцией моноцитов иммунными комплексами [32].

В группе сравнения добавление анти-IgG в культуральную среду не приводило к статистически значимым изменениям изучаемых параметров по сравнению с условиями без внесения изотипического контроля. Однако отмеченная тенденция к повышению концентрации TNF α может указывать на возможную неспецифическую активацию моноцитов, обусловленную взаимодействием Fc-фрагментов антител с Fc γ -рецепторами на их поверхности.

Таким образом, серия проведенных экспериментов демонстрирует потенциальную значимость HLA-зависимых механизмов антигенпрезентации в регуляции иммунного ответа при ПЭ и подчеркивает ключевую роль плацентарных факторов в модуляции иммунной микросреды на материнско-фетальном интерфейсе. Вместе с тем результаты исследования следует интерпретировать с осторожностью ввиду небольшого объема выборки.

Ограничения исследования

Ограничения настоящего исследования обусловлены особенностями его дизайна. Изначально исследование было сфокусировано на изучении иммунорегуляторных эффектов аллеля HLA-DRB1*01:01, ранее идентифицированного в качестве генетического фактора, ассоциированного с повышенным риском развития ПЭ. В то же время отсутствие группы пациенток с ПЭ без носительства аллеля HLA-DRB1*01:01 не позволяет в полной мере разграничить влияние генетической предрасположенности и плацентарных факторов на наблюдаемые изменения иммунного ответа.

Кроме того, в текущем исследовании использовали стандартную модель поликлональной активации Т-клеток посредством CD3/CD28-стимуляции, которая позволила оценить влияние ПКС на функциональный ответ активированных иммунокомпетентных клеток. Между тем в рамках исследования остается открытым вопрос о возможности прямой активации Т-клеток компонентами плацентарного секрета. Указанные ограничения определяют необходимость дальнейших исследований для подтверждения полученных данных.

ВЫВОДЫ

Настоящее исследование демонстрирует принципиально новую роль плацентарных факторов как активных модуляторов Т-клеточного иммунного ответа, способных

задавать направления поляризации CD4⁺-Т-клеток в процессе гестации. Показано, что при ПЭ плацентарная кондиционированная среда индуцирует выраженное смещение иммунного ответа в сторону провоспалительного фенотипа, сопровождающееся снижением доли Трег-клеток и увеличением продукции провоспалительных цитокинов, тогда как при физиологической беременности те же факторы, напротив, формируют толерогенную иммунную среду, ассоциированную с повышением уровня иммунорегуляторных молекул. Установлен вклад HLA-DR-зависимых механизмов в регуляции иммунного ответа при ПЭ, ассоциированной с носительством аллеля HLA-DRB1*01:01. Выявлено, что блокирование HLA-DR-зависимых взаимодействий сопровождается снижением продукции IFN- γ и IL17, что свидетельствует об участии механизмов МНС II-опосредованной активации

CD4⁺-Т-клеток в поддержании провоспалительного иммунного ответа при ПЭ. Можно предположить, что вариабельность молекул HLA класса II, включая аллели группы «shared epitope», может вносить вклад в регуляцию иммунного ответа на материнско-фетальном интерфейсе и определять особенности взаимодействия между плацентарным микроокружением и иммунной системой матери. Полученные результаты формируют новую концептуальную модель, в рамках которой ПЭ можно рассматривать как состояние, при котором плацентарные факторы, взаимодействуя с иммуногенетически детерминированными характеристиками беременной женщины, способны смещать иммунный гомеостаз в сторону провоспалительного фенотипа. Между тем необходимы дальнейшие исследования для подтверждения и расширения полученных данных.

Литература

- Karrar SA, Martingano DJ, Hong PL. Preeclampsia. [Updated 2024 Feb 25]. In: StatPearls [Internet]. 2024 Feb (cited 2025 Apr 12). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK570611/>
- Qin Z, Long Y. Immunological dysregulation in preeclampsia: Pathogenesis and clinical implications. *Int Immunopharmacol*. 2025; 163: 115314.
- Lu HQ, Hu R. The role of immunity in the pathogenesis and development of pre-eclampsia. *Scand J Immunol*. 2019; 90 (5): e12756.
- Than NG, Hahn S, Rossi SW, Szekeres-Bartho J. Editorial: Fetal-Maternal Immune Interactions in Pregnancy. *Front Immunol*. 2019; 10: 2729.
- Peng X, Chinwe Oluchi-Amakal, Kwak-Kim J, Yang X. A comprehensive review of the roles of T-cell immunity in preeclampsia. *Front Immunol*. 2025; 16: 1476123.
- Romao-Veiga M, Ribeiro VR, Matias ML, Nunes PR, Romagnoli GG, Peracoli JC, et al. DAMPs are able to skew CD4⁺ T cell subsets and increase the inflammatory profile in pregnant women with preeclampsia. *J Reprod Immunol*. 2022; 149: 103470.
- Мусаходжаева Д. А., Рустамова Н. Б., Садыкова Х. Э. Нарушение цитокинового баланса у беременных женщин с преэклампсией. *Российский иммунологический журнал*. 2024; 27 (4): 859–64.
- Eghbal-Fard S, Yousefi M, Heydarlou H, Ahmadi M, Taghavi S, Movasaghpour A, et al. The imbalance of Th17/Treg axis involved in the pathogenesis of preeclampsia. *J Cell Physiol*. 2019; 234 (4): 5106–16.
- Vargas-Rojas MI, Solleiro-Villavicencio H, Soto-Vega E. Th1, Th2, Th17 and Treg levels in umbilical cord blood in preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2016; 29 (10): 1642–5.
- Kwiatek M, Kwaśniewski W, Gęca T, Grywalska E, Rahnama-Hezavah M, Mertowski S, et al. Dysregulation of Treg/Th17 Balance and Intracellular Expression of IL21 and IL22 in the Pathogenesis of Gestational Hypertension. *Journal of Clinical Medicine*. 2025; 14 (20): 7288.
- Deer E, Herrock O, Campbell N, Cornelius D, Fitzgerald S, Amaral LM, et al. The role of immune cells and mediators in preeclampsia. *Nat Rev Nephrol*. 2023; 19: 257–70.
- Papapanagiotou A, Daskalaki MA, Gargalionis AN, Margoni A, Domali A, Daskalakis G, et al. The Role of Angiogenic Factors in Preeclampsia. *Int J Mol Sci*. 2025; 26 (21): 10431.
- Schumacher A, Brachwitz N, Sohr S, Engeland K, Langwisch S, Dolaptchieva M, et al. Human chorionic gonadotropin attracts regulatory T cells into the fetal-maternal interface during early human pregnancy. *Journal of Immunology*. 2009; 182 (9): 5488–97.
- Schumacher A, Costa SD, Zenclussen AC. Endocrine factors modulating immune responses in pregnancy. *Frontiers in Immunology*. 2014; 5: 196.
- Seppälä M, Taylor RN, Koistinen H, Koistinen R, Milgrom E. Glycodelin: a major lipocalin protein of the reproductive axis with diverse actions in cell recognition and differentiation. *Endocrine Reviews*. 2009; 30 (7): 784–813.
- Lee CL, Lam KK, Koistinen H, Seppala M, Kurpisz M, Fernandez N, et al. Glycodelin-A as a paracrine regulator in early pregnancy. *Human Reproduction Update*. 2016; 22 (5): 635–50.
- Munson PV, Adamik J, Butterfield LH. Immunomodulatory impact of α -fetoprotein. *Trends Immunol*. 2022; 43 (6): 438–48.
- Dendrou CA, Petersen J, Rossjohn J, Fugger L. HLA variation and disease. *Nat Rev Immunol*. 2018; 18 (5): 325–39.
- Aimagambetova G, Kapasheva A, Bahia W, Atageldiyeva K, Almawi WY. Maternal HLA class II alleles and haplotypes associated with altered risk of recurrent pregnancy loss: A case-control study. *Am J Reprod Immunol*. 2024; 91 (2): e13817.
- Болдырева М. Н., Хаитов Р. М., Барцева О. Б., Гузов И. И., Барков И. Ю., и др. Исследование роли HLA-DRB1-генов при невынашивании беременности неясного генеза. *Иммунология*. 2004; 1: 4–8.
- Гордеева Л. А., Шабалдин А. В., Глушков А. Н., Глушкова О. А., Макаренко О. С., Симонова Т. А., и др. Ассоциация HLA-DRB1* с репродуктивной патологией у женщин. *Медицинская иммунология*. 2007; 9 (6): 643–8.
- Takakuwa K, Honda K, Ishii K, Hataya I, Yasuda M, Tanaka K. Studies on the HLA-DRB1 genotypes in Japanese women with severe pre-eclampsia positive and negative for anticardiolipin antibody using a PCR-RFLP method. *Human Reproduction*. 1999; 14 (12): 2980–6.
- Krasnyi AA, Sorokina LE, Argentova-Stevens AM, Kokoeva DN, Alekseev AM, et al. Antibody-Dependent Cytotoxicity of Monocytes in Preeclampsia Is Associated with Soluble Forms of HLA. *International Journal of Molecular Sciences*. 2025; 26 (23): 11638.
- Aisagbonhi O, Morris GP. Human Leukocyte Antigens in Pregnancy and Preeclampsia. *Front Genet*. 2022; 13: 884275.
- Medeiros LT, Peracoli JC, Romao M, Banwart-Castro CF, Golim MA, Borges VT, et al. M1 Monocyte subpopulation is associated with pro-inflammatory cytokine production in pregnant women with preeclampsia. *Pregnancy Hypertens*. 2012; 2 (3): 276–7.
- Veenstra van Nieuwenhoven AL, Heineman MJ, Faas MM. The immunology of successful pregnancy. *Hum Reprod Update*. 2003; 9: 347–57.
- Wang J, Tao YM, Cheng XY, Zhu TF, Chen ZF, Yao H, et al. Dendritic cells derived from preeclampsia patients influence Th1/Th17 cell differentiation in vitro. *Int J Clin Exp Med*. 2014; 7 (12): 5303–9.
- Joerger-Messlerli MS, Hoesli IM, Rusterholz C, Lapaire O. Stimulation of monocytes by placental microparticles involves toll-like receptors and nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells. *Front Immunol*. 2014; 5: 173.
- La Rocca C, Carbone F, Longobardi S, Matarese G. The immunology of pregnancy: regulatory T cells control maternal immune tolerance

- toward the fetus. *Immunol Lett.* 2014; 162: 41–48.
30. Bai K, Lee CL, Liu X, Li J, Cao D, Zhang L, et al. Human placental exosomes induce maternal systemic immune tolerance by reprogramming circulating monocytes. *J Nanobiotechnology.* 2022; 20 (1): 86.
 31. Carlé C, Degboe Y, Ruysse-Witrand A, Arleevskaya MI, Clavel C, Renaudineau Y. Characteristics of the (Auto)Reactive T Cells in Rheumatoid Arthritis According to the Immune Epitope Database. *International Journal of Molecular Sciences.* 2023; 24 (5): 4296.
 32. Hoepel W, Newling M, Vogelpoel LTC, Sritharan L, Hansen IS, Kapsenberg ML, et al. FcyR-TLR Cross-Talk Enhances TNF Production by Human Monocyte-Derived DCs via IRF5-Dependent Gene Transcription and Glycolytic Reprogramming. *Front Immunol.* 2019; 10: 739.

References

1. Karrar SA, Martingano DJ, Hong PL. Preeclampsia. [Updated 2024 Feb 25]. In: StatPearls [Internet]. 2024 Feb (cited 2025 Apr 12). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK570611/>
2. Qin Z, Long Y. Immunological dysregulation in preeclampsia: Pathogenesis and clinical implications. *Int Immunopharmacol.* 2025; 163: 115314.
3. Lu HQ, Hu R. The role of immunity in the pathogenesis and development of pre-eclampsia. *Scand J Immunol.* 2019; 90 (5): e12756.
4. Than NG, Hahn S, Rossi SW, Szekeres-Bartho J. Editorial: Fetal-Maternal Immune Interactions in Pregnancy. *Front Immunol.* 2019; 10: 2729.
5. Peng X, Chinwe Oluchi-Amaka I, Kwak-Kim J, Yang X. A comprehensive review of the roles of T-cell immunity in preeclampsia. *Front Immunol.* 2025; 16: 1476123.
6. Romao-Veiga M, Ribeiro VR, Matias ML, Nunes PR, Romagnoli GG, Peracoli JC, et al. DAMPs are able to skew CD4+ T cell subsets and increase the inflammatory profile in pregnant women with preeclampsia. *J Reprod Immunol.* 2022; 149: 103470.
7. Musakhodzhaeva DA, Rustamova NB, Sadykova HZ. Narushenie citokinovogo balansa u beremennyh zhenshchin s preeklampsiej. *Rossijskij immunologicheskij zhurnal.* 2024; 27 (4): 859–64. Russian.
8. Eghbal-Fard S, Yousefi M, Heydarlou H, Ahmadi M, Taghavi S, Movasaghpour A, et al. The imbalance of Th17/Treg axis involved in the pathogenesis of preeclampsia. *J Cell Physiol.* 2019; 234 (4): 5106–16.
9. Vargas-Rojas MI, Solleiro-Villavicencio H, Soto-Vega E. Th1, Th2, Th17 and Treg levels in umbilical cord blood in preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016; 29 (10): 1642–5.
10. Kwiatek M, Kwaśniewski W, Gęca T, Grywalska E, Rahnama-Hezavah M, Mertowski S, et al. Dysregulation of Treg/Th17 Balance and Intracellular Expression of IL21 and IL22 in the Pathogenesis of Gestational Hypertension. *Journal of Clinical Medicine.* 2025; 14 (20): 7288.
11. Deer E, Herrock O, Campbell N, Cornelius D, Fitzgerald S, Amaral LM, et al. The role of immune cells and mediators in preeclampsia. *Nat Rev Nephrol.* 2023; 19: 257–70.
12. Papapanagiotou A, Daskalaki MA, Gargalionis AN, Margoni A, Domali A, Daskalakis G, et al. The Role of Angiogenic Factors in Preeclampsia. *Int J Mol Sci.* 2025; 26 (21): 10431.
13. Schumacher A, Brachwitz N, Sohr S, Engeland K, Langwisch S, Dolaptchieva M, et al. Human chorionic gonadotropin attracts regulatory T cells into the fetal-maternal interface during early human pregnancy. *Journal of Immunology.* 2009; 182 (9): 5488–97.
14. Schumacher A, Costa SD, Zenclussen AC. Endocrine factors modulating immune responses in pregnancy. *Frontiers in Immunology.* 2014; 5: 196.
15. Seppälä M, Taylor RN, Koistinen H, Koistinen R, Milgrom E. Glycodelin: a major lipocalin protein of the reproductive axis with diverse actions in cell recognition and differentiation. *Endocrine Reviews.* 2009; 30 (7): 784–813.
16. Lee CL, Lam KK, Koistinen H, Seppala M, Kurpisz M, Fernandez N, et al. Glycodelin-A as a paracrine regulator in early pregnancy. *Human Reproduction Update.* 2016; 22 (5): 635–50.
17. Munson PV, Adamik J, Butterfield LH. Immunomodulatory impact of α -fetoprotein. *Trends Immunol.* 2022; 43 (6): 438–48.
18. Dendrou CA, Petersen J, Rossjohn J, Fugger L. HLA variation and disease. *Nat Rev Immunol.* 2018; 18 (5): 325–39.
19. Aimagambetova G, Kapsheva A, Bahia W, Atageldiyeva K, Almawi WY. Maternal HLA class II alleles and haplotypes associated with altered risk of recurrent pregnancy loss: A case-control study. *Am J Reprod Immunol.* 2024; 91 (2): e13817.
20. Boldyreva MN, Haitov RM, Barceva OB, Guzov II, Barkov IYu, i dr. Issledovanie roli HLA-DRB1-genov pri nevyznashivanii beremennosti neyasnogo geneza. *Immunologiya.* 2004; 1: 4–8. Russian.
21. Gordeeva LA, SHabaldin AV, Glushkov AN, Glushkova OA, Makarchenko OS, Simonova TA, i dr. Associaciya HLA-DRB1* s reproduktivnoj patologiej u zhenshchin. *Medicinskaya immunologiya.* 2007; 9 (6): 643–8. Russian.
22. Takakuwa K, Honda K, Ishii K, Hataya I, Yasuda M, Tanaka K. Studies on the HLA-DRB1 genotypes in Japanese women with severe pre-eclampsia positive and negative for anticardiolipin antibody using a PCR-RFLP method. *Human Reproduction.* 1999; 14 (12): 2980–6.
23. Krasnyi AM, Sorokina LE, Argentova-Stevens AM, Kokoeva DN, Alekseev AA, et al. Antibody-Dependent Cytotoxicity of Monocytes in Preeclampsia Is Associated with Soluble Forms of HLA. *International Journal of Molecular Sciences.* 2025; 26 (23): 11638.
24. Aisagbonhi O, Morris GP. Human Leukocyte Antigens in Pregnancy and Preeclampsia. *Front Genet.* 2022; 13: 884275.
25. Medeiros LT, Peracoli JC, Romao M, Bannwart-Castro CF, Golim MA, Borges VT, et al. M1 Monocyte subpopulation is associated with pro-inflammatory cytokine production in pregnant women with preeclampsia. *Pregnancy Hypertens.* 2012; 2 (3): 276–7.
26. Veenstra van Nieuwenhoven AL, Heineman MJ, Faas MM. The immunology of successful pregnancy. *Hum Reprod Update.* 2003; 9: 347–57.
27. Wang J, Tao YM, Cheng XY, Zhu TF, Chen ZF, Yao H, et al. Dendritic cells derived from preeclampsia patients influence Th1/Th17 cell differentiation in vitro. *Int J Clin Exp Med.* 2014; 7 (12): 5303–9.
28. Joerger-Messerli MS, Hoesli IM, Rusterholz C, Lapaire O. Stimulation of monocytes by placental microparticles involves toll-like receptors and nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells. *Front Immunol.* 2014; 5: 173.
29. La Rocca C, Carbone F, Longobardi S, Matarese G. The immunology of pregnancy: regulatory T cells control maternal immune tolerance toward the fetus. *Immunol Lett.* 2014; 162: 41–48.
30. Bai K, Lee CL, Liu X, Li J, Cao D, Zhang L, et al. Human placental exosomes induce maternal systemic immune tolerance by reprogramming circulating monocytes. *J Nanobiotechnology.* 2022; 20 (1): 86.
31. Carlé C, Degboe Y, Ruysse-Witrand A, Arleevskaya MI, Clavel C, Renaudineau Y. Characteristics of the (Auto)Reactive T Cells in Rheumatoid Arthritis According to the Immune Epitope Database. *International Journal of Molecular Sciences.* 2023; 24 (5): 4296.
32. Hoepel W, Newling M, Vogelpoel LTC, Sritharan L, Hansen IS, Kapsenberg ML, et al. FcyR-TLR Cross-Talk Enhances TNF Production by Human Monocyte-Derived DCs via IRF5-Dependent Gene Transcription and Glycolytic Reprogramming. *Front Immunol.* 2019; 10: 739.

ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТЬ НАЗНАЧЕНИЯ АЛЬФАКАЛЬЦИДОЛА ПРИ ВТОРИЧНОМ ГИПЕРПАРАТИРЕОЗЕ У ПАЦИЕНТОВ НА ГЕМОДИАЛИЗЕ: РЕТРОСПЕКТИВНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Сара Джаафар Саадун¹, Аммар Мохаммед Атия², Ахмед Х. Ибрагим², Фатма М. Мостафа² ✉

¹ Фармацевтический колледж, Университет Ди Кар, Ди-Кар, Ирак

² Фармацевтический колледж, Иракский университет Аль-Айен, АUIQ, Насирия, Ирак

Вторичный гиперпаратиреоз (ВГПТ) — распространенное прогрессирующее осложнение хронической почечной недостаточности (ХПН), тяжесть которого часто возрастает у пациентов на гемодиализе. Хотя альфакальцидол и другие аналоги активного витамина D используют часто, их неправильное применение может увеличить риск гиперкальциемии и гиперфосфатемии. Целью исследования было оценить целесообразность назначения альфакальцидола пациентам, находящимся на гемодиализе и страдающим ВГПТ, используя указанные в рекомендациях клинические критерии. Данные 136 взрослых пациентов, проходивших лечение в центрах гемодиализа г. Насирия, были рассмотрены и проанализированы с использованием программного обеспечения SPSS (версия 26). Целесообразность назначения альфакальцидола оценивали в соответствии с рекомендациями KDIGO 2017, учитывая уровень фосфора, кальция и паратиреоидного гормона (ПТГ). Пациентов разделили на группы: с целесообразным или потенциально нецелесообразным назначением. Среди пациентов 55,1% были мужчинами 51,42 ± 11,5 лет. У большинства пациентов биохимические показатели (фосфор: 79,4%, кальций: 74,3% и ПТГ: 77,2% от нормы) были в пределах целевых диапазонов. У 72 пациентов (52,9%) назначение альфакальцидола признано нецелесообразным, а у 64 (47%) — целесообразным на основании соответствующих критериев из рекомендаций. Средний уровень ПТГ в группе с целесообразным назначением был значительно выше (923,14 ± 379,59 пг/мл) по сравнению с таковым в группе с нецелесообразным назначением (274,71 ± 179,69 пг/мл, $p < 0.001$). Значимая корреляция между возрастом, полом, уровнем кальция и фосфора и целесообразностью назначения отсутствовала. В этой группе пациентов значительная часть назначений альфакальцидола может не соответствовать действующим рекомендациям. Показатели разумного применения аналогов витамина D у пациентов на гемодиализе можно улучшить за счет более строгого следования научно обоснованным рекомендациям и регулярного мониторинга биохимических показателей.

Ключевые слова: гиперпаратиреоз, диализ, паразитовидная железа, витамин D, альфакальцидол

Благодарности: авторы благодарят персонал и администрацию отделения гемодиализа в Ан-Насерии (Ирак), за сотрудничество и поддержку в получении доступа к записям пациентов, а также выражают благодарность Фармацевтическому колледжу Университета Ти-Кар и Иракскому университету Аль-Айен за оказанную материально-техническую поддержку.

Вклад авторов: Фатма М. Мостафа — концепция и дизайн исследования, сбор и анализ данных, написание и окончательное утверждение рукописи; Сара Джаафар Саадун — сбор данных, визуализация, редактирование рукописи; Аммар Мохаммед Атия — интерпретация данных, статистический анализ (SPSS), редактирование рукописи; Ахмед Х. Ибрагим — проверка данных, редактирование рукописи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом Иракского университета Аль-Айен (номер одобрения АUIQ-REC-202). В связи с ретроспективным характером исследования информированное согласие пациентов не требовалось.

✉ **Для корреспонденции:** Фатма М. Мостафа
Ди-Кар, 64001, Ирак; fatmamostafa888999@gmail.com

Статья получена: 13.04.2026 **Статья принята к печати:** 16.05.2026 **Опубликована онлайн:** 30.05.2026

DOI: 10.24075/vrgmu.2026.025

Авторские права: © 2026 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/>).

APPROPRIATENESS OF PRESCRIBING ALFACALCIDOL IN SECONDARY HYPERPARATHYROIDISM IN DIALYSIS PATIENTS: A RETROSPECTIVE STUDY

Sarah Jaafar Saadoon¹, Ammar Mohammed Atiyah², Ahmed H. Ibrahim², Fatma M. Mostafa² ✉

¹ College of Pharmacy, University of Thi-Qar, Thi-Qar, Iraq

² College of Pharmacy, Al-Ayen Iraqi University, AUIQ, An Nasiriyah, Iraq

Secondary hyperparathyroidism (SHPT) is a common and progressive complication of chronic kidney disease (CKD), often intensifying as patients reach dialysis. Although alfacalcidol and other active vitamin D analogs are often used, improper administration can raise the risk of hypercalcemia and hyperphosphatemia. This study aimed to assess, using clinical criteria indicated by guidelines, whether alfacalcidol should be prescribed to hemodialysis patients with SHPT. Records of 136 adult patients treated in An-Naseria hemodialysis units were reviewed and analyzed using SPSS (version 26). The appropriateness of prescribing alfacalcidol was evaluated in accordance with KDIGO 2017 guidelines, taking into account levels of phosphate, calcium, and parathyroid hormone (PTH). Patients were divided into groups based on whether their prescriptions were appropriate or possibly inappropriate. Patients were 55.1% male and had an average age of 51.42 ± 11.5 years. The majority of patients exhibited biochemical values (phosphate: 79.4%, calcium: 74.3%, and PTH: 77.2% normal) within goal ranges. 72 patients (52.9%) were categorized as potentially inappropriate for alfacalcidol medication, whereas 64 patients (47%) were recognized as having appropriate indications based on criteria consistent with guidelines. The mean PTH levels of patients in the appropriate group were substantially higher (923.14 ± 379.59 pg/mL) than those in the inappropriate group (274.71 ± 179.69 pg/mL, $p < 0.001$). Age, sex, calcium, and phosphate levels did not significantly correlate with prescription appropriateness. This cohort may have a significant percentage of alfacalcidol prescriptions that may not follow current guidelines. The sensible use of vitamin D analogs in hemodialysis patients may be improved by better adherence to evidence-based guidelines and routine biochemical monitoring.

Keywords: hyperparathyroidism, dialysis, parathyroid, vitamin D, alfacalcidol

Acknowledgements: the authors would like to thank the staff and administration of the hemodialysis units in An-Naseria, Iraq, for their cooperation and support in accessing patient records. The authors also express gratitude to the College of Pharmacy, University of Thi-Qar, and Al-Ayen Iraqi University for providing logistical support.

Author contribution: Fatma M. Mostafa — conceptualization, study design, data collection, data analysis, manuscript drafting, and final approval; Sarah Jaafar Saadoon — data collection, visualization, review, and manuscript revision; Ammar Mohammed Atiyah — data interpretation, statistical analysis (SPSS), and critical revision of the manuscript; Ahmed H. Ibrahim — data validation, manuscript editing, and final approval.

Compliance with ethical standards: this retrospective study was conducted in accordance with the ethical standards, the research was approved by the Research Ethics Committee of Al-Ayen Iraqi University under approval number AUIQ-REC-2025-003. Due to the retrospective nature of this study using anonymized patient records, the requirement for informed consent was waived by the ethics committee.

✉ **Correspondence should be addressed:** Fatma M. Mostafa
Thi-Qar, 64001, Iraq; fatmamostafa888999@gmail.com

Received: 13.04.2026 **Accepted:** 16.05.2026 **Published online:** 30.05.2026

DOI: 10.24075/brsmu.2026.025

Copyright: © 2026 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/>).

Вторичный гиперпаратиреоз представляет собой одно из частых осложнений, встречающихся у пациентов с диагнозом «хроническая почечная недостаточность», которым регулярно выполняют гемодиализ [1]. Это хорошо известное заболевание, характеризующееся повышенной секрецией ПТГ и сопровождающейся гиперплазией паращитовидных желез, обусловлено прежде всего задержкой фосфора и сниженной способностью к выработке 1,25-дигидроксивитамина D₃ — кальцитриола. Эти факторы прямо и косвенно влияют на функцию паращитовидных желез [2].

Снижение концентрации 1,25-дигидроксивитамина D₃ в сыворотке крови приводит к ослаблению перистальтики кишечника и снижению мобилизации кальция из костной ткани, а повышение сывороточного уровня фосфора — к уменьшению количества свободного кальция в сыворотке, что способствует развитию гипокальциемии. Кроме того, паращитовидные железы первоначально реагируют на снижение уровня кальция повышением синтеза и секреции ПТГ, но вместе с тем длительная гипокальциемия впоследствии приводит к гиперплазии паращитовидных желез [3]. Помимо этого гиперфосфатемия может напрямую способствовать синтезу ПТГ, усиливать гиперплазию паращитовидных желез и уменьшать количество кальциевых рецепторов. Снижение концентрации 1,25-дигидроксивитамина D₃ в сыворотке крови уменьшает его прямое подавляющее воздействие на транскрипцию гена ПТГ и гиперплазию клеток паращитовидных желез. Оно также может играть определенную роль в снижении уровня рецепторов кальция и витамина D [4].

Профилактика и лечение вторичного гиперпаратиреоза требуют контроля уровня фосфора в сыворотке и восстановления уровня 1,25-дигидроксивитамина D₃. Крайне важно помнить, что одновременно необходимо лечить сопутствующие гипокальциемию и гиперфосфатемию, а также предупредить гиперкальциемию, в соответствии с рекомендациями из различных источников, прежде всего из обновленной версии рекомендаций по почечной недостаточности 2017 г. — CKD-Mineral and Bone Disorder (KDIGO) [5].

Согласно имеющимся данным, 1,25-дигидроксивитамин D ингибирует ген ПТГ, усиливает экспрессию чувствительных к кальцию рецепторов, а также, наряду с аутологичной активацией, повышает экспрессию рецепторов витамина D, что в совокупности влияет на биосинтез и секрецию ПТГ. Кроме того, известно о непосредственном воздействии на паращитовидные железы и гормон, обладающий как фосфатемическим, так и кальциемическим эффектом, а также о важной роли в подавлении и регуляции концентрации ПТГ. Кроме того, он влияет на скелет и ряд клеточных функций, особенно тех, которые зависят от кальция в плане гомеостатической регуляции [4].

У пациентов с хронической уремией наблюдаются снижение функции почек, уменьшение массы почек и, безусловно, снижение активности почечной 1- α -гидроксилазы, что подтверждает снижение уровня 1,25-дигидроксивитамина D в плазме крови, отмеченное в ходе нескольких исследований, в которых приняли участие пациенты с ХПН [6]. По этой причине витамин D (активную форму) считают одной из самых важных составляющих терапии почечной остеодистрофии, учитывая тот факт, что его фармакологическая и физиологическая активность оказывает решающее воздействие на функцию и пролиферацию клеток паращитовидных желез [7].

Витамин D успешно применяли во многих случаях. Однако, к сожалению, его применению часто препятствует узкий терапевтический диапазон в отношении супрессии ПТГ, не приводящей к гиперкальциемии, особенно при применении с кальцием [8]. Супрессия ПТГ обычно бывает связана с более высокой распространенностью адинамической костной болезни. По этим причинам при лечении гиперфосфатемии рассматривали значения уровня ПТГ, которые неизменно более чем в 2–9 раз превышали верхний предел, определенный для теста на ПТГ [9].

Целью исследования было оценить целесообразность назначения альфакальцидола при ВГПТ в когорте пациентов на гемодиализе путем сопоставления фактических назначений с предусмотренными рекомендациями клиническими критериями. Хотя рекомендации KDIGO 2017 г. содержат четкие указания, они могут по-разному применяться в клинической практике.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В ходе настоящего ретроспективного исследования с марта 2025 г. по январь 2026 г. были получены профили 150 пациентов. Из них в исследование включили 136 взрослых пациентов с диагнозом «вторичный гиперпаратиреоз», получавших биологически активную добавку с витамином D (альфакальцидол) в кабинетах гемодиализа больницы г. Насирия.

Критерии включения

Рассматривали пациентов, прошедших не менее одного курса лечения биологически активной добавкой с витамином D.

Кроме того, прежде чем принять решение лечить вторичный гиперпаратиреоз у пациентов на гемодиализе витамином D, было важно убедиться, что пациент соответствует следующим критериям:

- 1) возраст старше 18 лет;
- 2) диагноз «ВГПТ»;
- 3) прошел как минимум один курс лечения альфакальцидолом.

Критерии исключения

Листы назначений, содержавшие неполную информацию об основных исследуемых показателях, исключали.

Пациентов делили на категории для первичного анализа на основании того, было ли применение альфакальцидола «показано» или «не показано», с использованием стандартов, соответствующих рекомендациям KDIGO 2017 г. [5]. Для того чтобы пациента можно было классифицировать как имеющего показания, у него должна была быть определенная документально подтвержденная причина для назначения терапии, которую определяли следующим образом.

Уровень ПТГ: либо наблюдалась устойчивая тенденция к увеличению показателей в серийных измерениях выше целевого диапазона (в 2–9 раз выше верхней границы нормы), либо уровень интактного ПТГ (иПТГ) превышал 585 пг/мл (что указывает на 9-кратное превышение верхней границы нормы для используемого в данном исследовании теста [верхняя граница нормы: 65 пг/мл]).

Контролируемый уровень фосфора и кальция: в соответствии с критериями KDIGO, у пациента не развивалась неконтролируемая гиперфосфатемия (фосфор > 5,5 мг/дл)

Таблица 1. Демографические данные и биохимические факторы пациентов с вторичным гиперпаратиреозом

Переменные	Число (n = 136) %
Пол Мужской Женский	75 55,1 61 44,9
Возраст (среднее ± SD)	51,42 ± 11,5
ПТГ (пг/мл) Норма Отклонение от нормы	105 77,2 31 22,8
Скорректированный уровень кальция (ммоль/л) Норма Отклонение от нормы	101 74,3 35 25,7
Уровень фосфора (мг/дл) Норма Отклонение от нормы	108 79,4 28 20,6

или гиперкальциемия (скорректированный кальций > 2,63 ммоль/л) после начала лечения альфакальцидолом.

Группа «не показан» состояла из пациентов, которые получали альфакальцидол, но не соответствовали этим критериям (например, уровень ПТГ < 585 пг/мл в отсутствие тенденции к развитию неконтролируемой гиперфосфатемии/гиперкальциемии).

Исследование было одобрено этическим комитетом Иракского университета Аль-Айен (номер официального заключения AUIQ-REC-2025-003).

Данные получали из архивных файлов кабинетов гемодиализа нефрологических отделений больниц г. Насирия.

Статистический анализ

Статистический анализ данных предполагал, что уровень значимости составляет 0,05, а доверительный интервал — 95%. Данные представлены как среднее ± SD. Процентные доли и частоту использовали для описания исходных показателей и демографических факторов. Для сравнения категориальных данных был выбран точный критерий Фишера, в иных случаях применяли *t*-критерий.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Мы провели исследование 136 пациентов. Эти пациенты были разделены на две группы в соответствии с критериями KDIGO: группа 1 (витамин D показан) состояла

из пациентов, которые соответствовали всем трем критериям включения. Пациенты из группы 2 (витамин D не показан) соответствовали одному из перечисленных выше критериев или более. Что касается демографических данных исследуемой популяции, установлено, что средний возраст пациентов составил 51,42 ± 11,5 лет. Доли участников исследования мужского и женского пола составили 55,1 и 44,9% соответственно.

Биохимические данные также представлены в табл. 1. Мы заметили, что у 77,2% пациентов на гемодиализе был нормальный уровень ПТГ, а отклонения от нормы были обнаружены у 22,8%. Установлено, что скорректированный уровень кальция был нормальным у 74,3% пациентов и демонстрировал отклонения от нормы у 25,7%. Что касается уровня фосфора, у 79,4% пациентов он был нормальным, а у 20,6% имели место отклонения от нормы.

Биохимические и связанные с гемодиализом показатели у пациентов, которым показан и не показан витамин D, были проанализированы и представлены в табл. 2 в виде средних и стандартных отклонений. Установлено, что средний уровень ПТГ был высоким у пациентов, имевших показания (923,14 ± 379,59); средний уровень гормона был резко снижен у пациентов, не имевших показаний (274,71 ± 179,69). Средний скорректированный уровень кальция, напротив, был выше в группе пациентов, не имевших показаний, чем в группе, имевшей показания: он составил 2,87 ± 0,41 и 1,65 ± 0,49 соответственно. Что касается уровня фосфора, между пациентами, имевшими

Таблица 2. Биохимические и связанные с гемодиализом показатели у пациентов, которым показан и не показан витамин D

Переменная	Показан (группа 1) (среднее ± SD)	Не показан (группа 2) (среднее ± SD)
ПТГ (пг/мл)	923,14 ± 379,59	274,71 ± 179,69
Скорректированный уровень кальция (ммоль/л)	1,65 ± 0,49	2,87 ± 0,41
Уровень фосфора (мг/дл)	3,61 ± 0,59	4,97 ± 1,3

Таблица 3. Уровень ПТГ (пг/мл) у пациентов, которым показан и не показан витамин D

ПТГ (пг/мл)	Вмешательство					
	Не показан (группа 2)		Показан (группа 1)		Всего	
	N	%	N	%	N	%
Норма	65	90,3	22	34,4	87	64
Отклонение от нормы	7	9,7	42	65,6	49	36
Всего	72	100	64	100	136	100
P-value	<0,001*					

Примечание: использован критерий хи-квадрат; *P-value — уровень значимости.

Таблица 4. Скорректированный уровень кальция (ммоль/л) у пациентов, которым показан и не показан витамин D

Скорректированный уровень кальция (ммоль/л)	Вмешательство					
	Не показан (группа 2)		Показан (группа 1)		Всего	
	N	%	N	%	N	%
Норма	59	81,9	41	64,1	100	73,5
Отклонение от нормы	13	18,1	23	35,9	36	26,5
Всего	72	100	64	100	136	100
P-value	0,919					

Примечание: использован критерий хи-квадрат.

Таблица 5. Уровень фосфора (мг/дл) у пациентов, которым показан и не показан витамин D

Уровень фосфора (мг/дл)	Вмешательство					
	Не показан (группа 2)		Показан (группа 1)		Всего	
	N	%	N	%	N	%
Норма	50	96,4	51	79,7	101	84,3
Отклонение от нормы	22	30,6	13	20,3	35	25,7
Всего	72	100	64	100	136	100
P-value	0,468					

Примечание: использован критерий хи-квадрат.

показания и не имевшими показаний, практически не было различий: средний уровень составил $3,61 \pm 0,59$ и $4,97 \pm 1,3$ соответственно.

В табл. 3 представлено распределение и взаимосвязи уровня ПТГ (пг/мл) у пациентов, которым показан и не показан витамин D. Уровень ПТГ был нормальным у большинства пациентов из группы, не имевшей показаний, в то время как у 34,4% пациентов из группы, имевшей показания, выявлены отклонения от нормы. Мы обнаружили значимые различия между применявшими и не применявшими витамин D в связи с ПТГ (p -value < 0,001*).

Мы обнаружили небольшие различия в доле нормального скорректированного уровня кальция между группой, имевшей показания, и группой, не имевшей показаний: она составила 81,9% в группе, не имевшей показаний, и 64,1% в группе, имевшей показания (табл. 4). То же было установлено в отношении доли отклонений от нормы: она составила 35,9 и 18,1% у пациентов, имевших показания и не имевших показаний, соответственно. Значимые различия в скорректированном уровне кальция между группой, имевшей показания, и группой, не имевшей показаний, не обнаружены (p -value = 0,919).

В табл. 5 представлено распределение нормального уровня фосфора (мг/дл) и отклонений от нормы в группе, имеющей показания, и группе, не имеющей показаний. Установлено, что нормальный уровень фосфора имел место у 96,4% пациентов в группе, не имевшей показаний, и 79,7% пациентов в группе, имевшей показания. Отклонения от нормы зафиксированы у 30,6 и 20,3% пациентов в группе, не имевшей показаний, и группе, имевшей показания, соответственно. Значимые различия между применявшими и не применявшими витамин D в связи с уровнем фосфора не обнаружены (p -value = 0,468).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Терапия витамином D при вторичном гиперпаратиреозе применяется уже несколько десятилетий. Существуют различные клинические практики и рекомендации, подтверждающие ее эффективность. Однако имела место неопределенность в отношении клинической значимости [10]. Важно было найти ответы на вопросы, какой вид

витамина D следует использовать, для каких пациентов и когда его следует применять.

Что касается демографических данных пациентов с вторичным гиперпаратиреозом, средний возраст составил 51,42 лет. Установлено, что доля мужчин была выше доли женщин: 55,1% были мужчинами, 44,9% — женщинами. Практически такие же результаты получены Gupta et al., которые установили, что среди пациентов было 55% мужчин и 45% женщин. При этом средний возраст был выше, чем в нашем исследовании (60,4%) [11]. Xu et al. сообщили о большей доле мужчин по сравнению с женщинами: 62% пациентов были мужчинами, 38% были женщинами. При этом средний возраст пациентов составил 66 лет [12].

Согласно нашим результатам, уровень ПТГ был выше у пациентов, которым была необходима добавка с витамином D (923,14), и значительно ниже (274,71) у пациентов, не имевших показаний. Установлено, что скорректированный уровень кальция был ниже в группе, которой был показан витамин D (1,65), чем в группе, которой он показан не был (2,87). В то же время уровень фосфора был выше в группе, не имевшей показаний (4,97), чем в группе, имевшей показания (3,61), при этом показатели были практически одинаковыми. По данным De Vincentis, когда уровень витамина D был выше нормы на протяжении всего периода лечения высокими дозами витамина, имела место тенденция к снижению уровня ПТГ в сыворотке, а показатели, близкие к нижней границе нормального диапазона, могли сигнализировать о наличии интоксикации. Этот показатель постепенно снижался в первой фазе применения добавки с холекальциферолом в соответствии с тенденцией к снижению уровня ПТГ в сыворотке крови, с учетом тенденции изменения сывороточного уровня кальция [13].

В ходе нашего исследования не была выявлена значимая корреляция между возрастом и фактом наличия или отсутствия показаний к назначению витамина D. Эти результаты согласуются с результатами El-Arbagy et al., показавшими отсутствие значимой взаимосвязи между возрастом и витамином D [14].

В ходе нашего исследования обнаружено отсутствие значимой корреляции между уровнем кальция и фосфора и фактом наличия или отсутствия показаний к назначению

витамина D. Наши результаты согласуются с результатами El-Arbağy et al., сообщившими об отсутствии значимой корреляции между применением добавки с витамином D и уровнем кальция и фосфора [14]. Кроме того, Bellavia et al. установили, что эффект концентрации фосфора в плазме крови не зависит от уровня кальция в плазме крови или активации витамина D [15]. Различные исследования показали отсутствие какой-либо взаимосвязи между Ca и применением добавки с витамином D [16, 17]. В то же время в других задокументированных случаях отсутствует информация об исходных показателях функции почек. В связи с этим есть смысл полагать, что наличие нормальных исходных показателей функции почек важно для задержки развития возникновения токсических эффектов, связанных с приемом высоких доз витамина D. Это противоречит тому факту, что в нескольких случаях была зафиксирована остаточная хроническая почечная недостаточность [13, 18].

В ходе нашего исследования выявлена значимая корреляция уровня ПТГ с фактом наличия или отсутствия показаний к назначению витамина D. Эти результаты согласуются с результатами других исследований, показавших значимую корреляцию между ПТГ и витамином D [19]. Помимо этого Wolf et al. утверждают, что статус витамина D слабо коррелирует с уровнем ПТГ в сыворотке крови [20]. В отличие от нас, El-Arbağy et al. и Coen et al. сообщили об отсутствии значимой связи между группами витаминов применительно к ПТГ [14]. Уровень этих показателей может не в полной мере отражать сложность процесса принятия терапевтических решений в конкретный момент времени, поскольку их часто контролируют одновременно с другими видами терапии (такими как связывающие фосфаты препараты и кальцимитетики).

Согласно KDIGO 2017, наш обновленный анализ показал, что многим пациентам в этой группе назначали альфакальцидол без соблюдения необходимых критериев. Существует ряд причин, по которым подобная модель возможного применения вызывает беспокойство. Во-первых, использование аналогов активных форм витамина D может способствовать снижению уровня ПТГ до субоптимального, увеличивая риск адинамической костной болезни у пациентов с адекватным контролем ПТГ, особенно у тех, кто имеет сниженный или ограниченный костный метаболизм [8]. Во-вторых, такие препараты

могут усиливать гиперфосфатемию и гиперкальциемию, представляющие собой отдельные факторы риска смертности и кальцификации тканей сердечно-сосудистой системы у пациентов на гемодиализе [21, 22].

Ограничения исследования

У исследования есть ряд ограничений. Во-первых, трудно обобщить результаты и установить причинно-следственные связи из-за ретроспективного одноцентрового дизайна. Во-вторых, статистическая мощность снижена из-за небольшого размера выборки. В-третьих, в соответствии с рекомендациями KDIGO 2017 г., уровень витамина D в крови не оценивали до начала приема альфакальцидола, поскольку не измеряли уровень 25-гидрокси Витамина D в сыворотке крови. И, наконец, отсутствовала информация о продолжительности использования и дозировке альфакальцидола, а также о применяемых одновременно с ним препаратах.

Выводы

В нашем исследовании 79,4% пациентов имели нормальный уровень ПТГ (77,2%), нормальный скорректированный уровень кальция (74,3%) и нормальный уровень фосфора (79,4%), однако в большинстве случаев им все равно назначали витамин D, несмотря на отсутствие показаний. Данное наблюдение позволяет с уверенностью предположить, что большинству пациентов не требовались добавки с витамином D, и их применение выходило за рамки основанных на доказательствах протоколов лечения. В совокупности результаты демонстрируют четкую закономерность злоупотребления витамином D у пациентов на гемодиализе, страдающих гиперпаратиреозом. Рекомендации: регулярный мониторинг уровня витамина D, кальция, ПТГ и фосфора необходим для того, чтобы не допустить ненужного приема биологически активных добавок с витамином D. Возможно, эти параметры следует оценивать чаще — например, ежемесячно, когда производится коррекция терапии, которая может повлиять на их значения. Принимая решение о начале или коррекции терапии витамином D, всегда нужно руководствоваться этими лабораторными показателями, чтобы обеспечить надлежащее использование препарата и снизить риск злоупотребления.

Литература

- Stack BC. Secondary hyperparathyroidism. *Otolaryngologic Clinics of North America*. 2024; 57 (1): 99–110.
- Xiang Z, et al. Mechanism of calcitriol regulating parathyroid cells in secondary hyperparathyroidism. *Frontiers in Pharmacology*. 2022; 13: 1020858.
- Habas Sr E, et al. Secondary hyperparathyroidism in chronic kidney disease: pathophysiology and management. *Cureus*. 2021; 13 (7).
- Magagnoli L, Ciceri P, Cozzolino M. Secondary hyperparathyroidism in chronic kidney disease: pathophysiology, current treatments and investigational drugs. *Expert Opinion on Investigational Drugs*. 2024; 33 (8): 775–89.
- Ketteler M, et al. Executive summary of the 2017 KDIGO Chronic Kidney Disease–Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD) Guideline Update: what's changed and why it matters. *Kidney international*. 2017; 92 (1): 26–36.
- Kantartz K, et al. Vitamin D and Vitamin D Analogues in Hemodialysis Patients: A Review of the Literature. *International Journal of Molecular Sciences*. 2025; 26 (23): 11550.
- Hou Y-C, et al. Role of calcimimetics in treating bone and mineral disorders related to chronic kidney disease. *Pharmaceuticals*. 2022; 15 (8): 952.
- Brandenburg V, Ketteler M. Vitamin D and secondary hyperparathyroidism in chronic kidney disease: a critical appraisal of the past, present, and the future. *Nutrients*. 2022; 14 (15): 3009.
- Chao C-T, et al. Adynamic bone disorder in chronic kidney disease: meta-analysis and narrative review of potential biomarkers as diagnosis and therapeutic targets. *Renal Failure*. 2025; 47 (1): 2530162.
- Strugnell SA, et al. Evaluation of therapies for secondary hyperparathyroidism associated with vitamin D insufficiency in chronic kidney disease. *Kidney Diseases*. 2023; 9 (3): 206–17.

11. Weber T, et al. Symptoms of primary hyperparathyroidism in men and women: the same but different? *Visceral medicine*. 2020; 36 (1): 41–47.
12. Xu Y, et al. Secondary hyperparathyroidism and adverse health outcomes in adults with chronic kidney disease. *Clinical kidney journal*. 2021; 14 (10): 2213–20.
13. De Vincentis S, et al. How much vitamin D is too much? A case report and review of the literature. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)*. 2021; 21 (9): 1653–9.
14. El-Arbagy A, et al. Assessment of vitamin D in hemodialysis patients. *Menoufia Medical Journal*. 2020; 33 (1): 122–123.
15. Bellavia D, et al. Vitamin D level between calcium-phosphorus homeostasis and immune system: new perspective in osteoporosis. *Current osteoporosis reports*. 2024; 22 (6): 599–610.
16. Tobias DK, et al. Association of body weight with response to vitamin D supplementation and metabolism. *JAMA network open*. 2023; 6 (1): e2250681–e2250681.
17. Barghi M, et al. Serum levels of vitamin D, calcium, phosphorus, and oxidative parameters in healthy and diabetic people. *Functional Foods in Health and Disease-Online I*. 2021; 11 (5): 238–45.
18. Auguste BL, Bargman J. RE: Misconception for the cause of vitamin D toxicity. 2025.
19. Hussain F, et al. Assessment of Vitamin D Levels and Bone-Related Biochemical Markers in Healthy Adults in Pakistan: Influence of Socio-Demographic and Environmental Factors: Vitamin D Levels and Bone-Related Biochemical Markers in Healthy Adults. *Pakistan Journal of Health Sciences*. 2025: 194–9.
20. Wolf M, et al. Vitamin D levels and early mortality among incident hemodialysis patients. *Kidney international*. 2007; 72 (8): 1004–13.
21. Graidis S, Papavramidis TS, Papaioannou M. Vitamin D and acute kidney injury: A two-way causality relation and a predictive, prognostic, and therapeutic role of vitamin D. *Frontiers in nutrition*. 2021; 7: 630951.
22. Franczyk B, Rysz J, Gluba-Sagr A. Impact of Serum Phosphate, Potassium and Other Electrolyte Levels on Sudden Cardiac Death and Cardiovascular Mortality in Haemodialysis and Peritoneal Dialysis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Biomedicines*. 2026;14 (3): 605.

References

1. Stack BC. Secondary hyperparathyroidism. *Otolaryngologic Clinics of North America*. 2024; 57 (1): 99–110.
2. Xiang Z, et al. Mechanism of calcitriol regulating parathyroid cells in secondary hyperparathyroidism. *Frontiers in Pharmacology*. 2022; 13: 1020858.
3. Habas Sr E, et al. Secondary hyperparathyroidism in chronic kidney disease: pathophysiology and management. *Cureus*. 2021; 13 (7).
4. Magagnoli L, Ciceri P, Cozzolino M. Secondary hyperparathyroidism in chronic kidney disease: pathophysiology, current treatments and investigational drugs. *Expert Opinion on Investigational Drugs*. 2024; 33 (8): 775–89.
5. Ketteler M, et al. Executive summary of the 2017 KDIGO Chronic Kidney Disease–Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD) Guideline Update: what's changed and why it matters. *Kidney international*. 2017; 92 (1): 26–36.
6. Kantartzi K, et al. Vitamin D and Vitamin D Analogues in Hemodialysis Patients: A Review of the Literature. *International Journal of Molecular Sciences*. 2025; 26 (23): 11550.
7. Hou Y-C, et al. Role of calcimimetics in treating bone and mineral disorders related to chronic kidney disease. *Pharmaceuticals*. 2022; 15 (8): 952.
8. Brandenburg V, Ketteler M. Vitamin D and secondary hyperparathyroidism in chronic kidney disease: a critical appraisal of the past, present, and the future. *Nutrients*. 2022; 14 (15): 3009.
9. Chao C-T, et al. Adynamic bone disorder in chronic kidney disease: meta-analysis and narrative review of potential biomarkers as diagnosis and therapeutic targets. *Renal Failure*. 2025; 47 (1): 2530162.
10. Strugnelli SA, et al. Evaluation of therapies for secondary hyperparathyroidism associated with vitamin D insufficiency in chronic kidney disease. *Kidney Diseases*. 2023; 9 (3): 206–17.
11. Weber T, et al. Symptoms of primary hyperparathyroidism in men and women: the same but different? *Visceral medicine*. 2020; 36 (1): 41–47.
12. Xu Y, et al. Secondary hyperparathyroidism and adverse health outcomes in adults with chronic kidney disease. *Clinical kidney journal*. 2021; 14 (10): 2213–20.
13. De Vincentis S, et al. How much vitamin D is too much? A case report and review of the literature. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)*. 2021; 21 (9): 1653–9.
14. El-Arbagy A, et al. Assessment of vitamin D in hemodialysis patients. *Menoufia Medical Journal*. 2020; 33 (1): 122–123.
15. Bellavia D, et al. Vitamin D level between calcium-phosphorus homeostasis and immune system: new perspective in osteoporosis. *Current osteoporosis reports*. 2024; 22 (6): 599–610.
16. Tobias DK, et al. Association of body weight with response to vitamin D supplementation and metabolism. *JAMA network open*. 2023; 6 (1): e2250681–e2250681.
17. Barghi M, et al. Serum levels of vitamin D, calcium, phosphorus, and oxidative parameters in healthy and diabetic people. *Functional Foods in Health and Disease-Online I*. 2021; 11 (5): 238–45.
18. Auguste BL, Bargman J. RE: Misconception for the cause of vitamin D toxicity. 2025.
19. Hussain F, et al. Assessment of Vitamin D Levels and Bone-Related Biochemical Markers in Healthy Adults in Pakistan: Influence of Socio-Demographic and Environmental Factors: Vitamin D Levels and Bone-Related Biochemical Markers in Healthy Adults. *Pakistan Journal of Health Sciences*. 2025: 194–9.
20. Wolf M, et al. Vitamin D levels and early mortality among incident hemodialysis patients. *Kidney international*. 2007; 72 (8): 1004–13.
21. Graidis S, Papavramidis TS, Papaioannou M. Vitamin D and acute kidney injury: A two-way causality relation and a predictive, prognostic, and therapeutic role of vitamin D. *Frontiers in nutrition*. 2021; 7: 630951.
22. Franczyk B, Rysz J, Gluba-Sagr A. Impact of Serum Phosphate, Potassium and Other Electrolyte Levels on Sudden Cardiac Death and Cardiovascular Mortality in Haemodialysis and Peritoneal Dialysis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Biomedicines*. 2026;14 (3): 605.

ДЕСИНХРОНИЗАЦИЯ СЕНСОМОТОРНЫХ РИТМОВ ПРИ СОВЕРШЕНИИ КВАЗИДВИЖЕНИЙ, ОСНОВАННЫХ НА ЕСТЕСТВЕННЫХ ДВИЖЕНИЯХ ПАЛЬЦЕВ РУКИ

Е. П. Свири́н¹✉, Д. А. Бердышев^{1,2}, С. Л. Шишкин¹

¹ Центр нейрокогнитивных исследований (МЭГ-центр), Московский государственный психолого-педагогический университет, Москва, Россия

² Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия

Квазидвижения (КД) — попытки движения, минимизированные до исчезновения движения, — вызывают ЭЭГ-паттерны, схожие с реальным движением. КД могут моделировать попытки движения у здоровых участников и потому представляют интерес как альтернатива представлению движений (ПД) для реабилитационных интерфейсов мозг–компьютер (ИМК), в которых попытка движения парализованной конечностью используется как управляющий сигнал. КД ранее исследовали на отведении большого пальца. Целью данной работы было проверить осуществимость КД на основе более естественных действий (нажатие и указание) и сравнить их ЭЭГ-корреляты с ПД. У 11 здоровых добровольцев (6 женщин, возраст 21–32 года) регистрировали ЭЭГ при выполнении ПД, нецеленаправленных КД (нКД), целенаправленных КД (цКД) и реальных движений. Оба типа КД вызывали более выраженную контралатеральную десинхронизацию μ -ритма 8–13 Гц, чем ПД (0,63 дБ, эффект типа движения, $p = 0,042$), тогда как нКД и цКД не различались. Ипсилатеральная десинхронизация не различалась между условиями ($p = 0,216$). В поддиапазоне верхнего μ -ритма (10–13 Гц) попарные сравнения достигали значимости (нКД–ПД: 0,82 дБ, $p = 0,003$; цКД–ПД: 0,70 дБ, $p = 0,022$). В теменной области интереса эффект типа движения отсутствовал ($p = 0,15$). Вклад остаточного движения не был значим. Полученные данные показывают, что КД на основе естественных действий осуществимы и обеспечивают более выраженную сенсомоторную активацию, чем ПД, что обосновывает их дальнейшее изучение в контексте реабилитационных ИМК.

Ключевые слова: квазидвижения, представление движений, попытка движения, десинхронизация μ -ритма, электроэнцефалография, интерфейс мозг–компьютер, нейрореабилитация

Финансирование: исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-75-00105, <https://rscf.ru/project/24-75-00105/>.

Благодарности: авторы благодарят А. Васильева за рекомендации по обработке данных и обратную связь.

Вклад авторов: Е. П. Свири́н — дизайн исследования, проведение экспериментов, анализ результатов, написание статьи, написание финальной версии; Д. А. Бердышев — дизайн исследования, анализ результатов, написание статьи; С. Л. Шишкин — концептуализация исследования, обсуждение результатов, написание финальной версии.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом Московского государственного психолого-педагогического университета (протокол заседания № 4 от 01 апреля 2026 г.). Все участники подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Евгений Павлович Свири́н
Шелепихинская набережная, д. 2А, стр. 2, г. Москва, 123290, Россия; jogikint@gmail.com

Статья получена: 19.04.2026 **Статья принята к печати:** 11.05.2026 **Опубликована онлайн:** 14.06.2026

DOI: 10.24075/vrgmu.2026.030

Авторские права: © 2026 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/>).

SENSORIMOTOR RHYTHM DESYNCHRONIZATION DURING EXECUTION OF QUASI-MOVEMENTS BASED ON NATURAL FINGER MOVEMENTS

Svirin EP¹✉, Berdyshev DA^{1,2}, Shishkin SL¹

¹ Center for Neurocognitive Research (MEG Center), Moscow State University of Psychology & Education, Moscow, Russia

² Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Quasi-movements (QMs), which are movement attempts minimized to the point of movement extinction, evoke EEG patterns similar to those of real movement. QMs can model attempted movement in healthy subjects and are therefore of interest as an alternative to motor imagery (MI) in rehabilitation brain–computer interfaces (BCIs), in which the attempted movement of the paralyzed limb is used as a control signal. Earlier QM studies were focused on thumb abduction. The study aimed to verify the feasibility of QMs based on more natural actions (pressing and pointing) and compare their EEG correlates with those of MI. In 11 healthy volunteers (6 women, aged 21–32), EEG recording was performed during execution of MI, non-goal-directed QMs (nQMs), goal-directed QMs (gQMs), and real movements. Both QM types caused more pronounced contralateral desynchronization of the 8–13 Hz μ rhythm than MI (0.63 dB, effect of movement type, $p = 0.042$), while nQMs and gQMs did not differ. There were no differences in ipsilateral desynchronization between the conditions ($p = 0.216$). Pairwise comparisons were significant in the upper-frequency μ rhythm sub-range (nQM–MI: 0.82 dB, $p = 0.003$; gQM–MI: 0.70 dB, $p = 0.022$). There was no effect of movement type in the parietal area of interest ($p = 0.15$). The contribution of residual movement was non-significant. The data obtained show that QMs based on natural actions are feasible and produce stronger sensorimotor activation than MI, which justifies further research focused on QMs in the context of rehabilitation BCIs.

Keywords: quasi-movements, motor imagery, attempted movement, μ rhythm desynchronization, electroencephalography, brain–computer interface, neurorehabilitation

Funding: the study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 24-75-00105, <https://rscf.ru/project/24-75-00105/>.

Acknowledgements: the authors would like to thank A. Vasilyev for guidance on data processing and feedback.

Author contribution: Svirin EP — study design, experimental procedure, analysis of results, manuscript writing, writing the final version; Berdyshev DA — study design, analysis of results, manuscript writing; Shishkin SL — study conceptualization, discussion, writing the final version.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Moscow State University of Psychology & Education (protocol No. 4 dated 01 April 2026). All subjects submitted the informed consent to take part in the study.

✉ **Correspondence should be addressed:** Evgeny P. Svirin
Shelephinskaya naberezhnaya, 2A, str. 2, Moscow, 123290, Russia; jogikint@gmail.com

Received: 19.04.2026 **Accepted:** 11.05.2026 **Published online:** 14.06.2026

DOI: 10.24075/brsmu.2026.030

Copyright: © 2026 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/>).

Кинестетическое представление движений (ПД) является одной из наиболее широко используемых стратегий управления в неинвазивных интерфейсах мозг–компьютер (ИМК) [1]. Однако ПД — это внутренне направленная задача, которая может конкурировать со зрительным вниманием [2, 3] и обработкой внешней информации [4], включая обратную связь от интерфейса. Кроме того, ПД требует от пользователя выполнения абстрактной ментальной задачи, отличной от реального действия [5, 6]. Это мотивирует поиск альтернативных моторных задач, которые сохраняли бы информативные ЭЭГ-корреляты и при этом были ближе к естественному действию.

Перспективным кандидатом являются квазидвижения (КД) — феномен, определяемый как сознательное уменьшение амплитуды движения до тех пор, пока не исчезнет как видимое движение, так и мышечная активация [7], но сохраняются паттерны ЭЭГ, характерные для реального движения (РД) [7, 8]. Хотя в ряде случаев остаточная мышечная активация может сохраняться, недавние работы указывают, что ее присутствие не объясняет ЭЭГ-эффекты, связанные с КД [9]. КД субъективно воспринимаются как более схожие с РД по сравнению с ПД, что может поддерживать чувство контроля при использовании ИМК [10]. КД были также предложены в качестве модели попыток движения [11], которые ранее обсуждались как перспективная альтернатива ПД для ИМК, особенно в клинических и реабилитационных приложениях [12, 13]. Таким образом, КД могут представлять интерес и как способ изучения состояния, подобного попытке движения, у здоровых участников в контролируемых условиях.

В настоящее время, однако, исследования КД остаются в основном ограниченными одним движением — отведением большого пальца [7, 9], которое было исходно выбрано авторами из-за простоты регистрации поверхностной ЭМГ соответствующих мышц. Это оставляет открытым вопрос о том, могут ли КД быть распространены на более естественные действия.

Интерес представляет также возможность совершения целенаправленных КД. Целенаправленные действия ориентированы на внешний объект или результат. Показано, что подготовка целенаправленных действий «достижения» связана с более ранней и более распространенной кортикальной активацией, чем подготовка нецеленаправленных движений, включая более выраженное вовлечение теменных областей [14, 15]. Кроме того, были описаны функциональные диссоциации между нижним (8–10 Гц) и верхним (10–12 Гц) μ -ритмами: верхний компонент обнаруживает более соматотопический паттерн десинхронизации [16], а теменная α -десинхронизация при планировании таких движений специфически связана с целенаправленным характером действия [17]. Эти данные указывают на возможность того, что ЭЭГ-корреляты целенаправленности могут выражаться не только в амплитуде десинхронизации над сенсомоторными зонами, но и в вовлечении теменных областей и динамике верхнего μ -ритма. Может ли подобный эффект наблюдаться при КД, где явное взаимодействие с объектом отсутствует по определению, остается открытым вопросом.

Целью данной работы являлась проверка того, могут ли целенаправленные действия руки быть реализованы как КД и сохраняют ли они модуляцию сенсомоторного ритма, делающую КД перспективными для приложений ИМК. Дополнительными задачами были сравнение ЭЭГ-коррелятов новых КД с кинестетическим ПД тех

же действий и оценка того, проявляется ли эффект целенаправленной инструкции в сенсомоторной или теменной области, как предполагает литература о планировании целенаправленных движений [14–17].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на базе Московского государственного психолого-педагогического университета. В исследовании приняли участие 11 здоровых добровольцев (6 женщин в возрасте 21–32 года, медианный возраст — 28 лет). Критерии включения: здоровые добровольцы мужского и женского пола в возрасте 18–35 лет. Критерии исключения: невозможность совершения движений рукой, наличие диагностированных неврологических и/или психических заболеваний, наличие эпизодов судорожных припадков или диагностированного эпилептического статуса.

Регистрацию сигналов выполняли на платформе Resonance [18]. ЭЭГ регистрировали в 64 отведениях по системе 10–10, с частотой дискретизации 1000 Гц усилителем NVX136DC («Медицинские компьютерные системы», Россия). Заземляющий электрод располагали в позиции Frpz. Импеданс электродов поддерживали ниже 20 кОм.

Для механической регистрации минимального остаточного движения был разработан специальный датчик на основе тензорезистора (далее — «тензодатчик», более подробное описание приведено в Приложении). Датчик был установлен в корпусе, позволяющем участнику расположить руку ладонью вниз в естественной расслабленной позе, при этом дистальная фаланга указательного пальца располагалась на круглой пластине (диаметр 20 мм), находящейся вровень с окружающей поверхностью. Датчик мог обнаруживать очень малые изменения прикладываемой пальцем силы независимо от направления. Поверхностная ЭМГ была сочтена непригодной, поскольку нажатие и указание зависят от глубоких мышечных групп, и минимальная остаточная активация при КД была бы трудно интерпретируема по данным поверхностных отведений.

Во время эксперимента участник сидел в кресле перед экраном компьютера. Правая рука была размещена ладонью вниз на тензодатчике так, чтобы указательный палец располагался на чувствительной пластине. Последовательность предъявления стимулов обеспечивалась с помощью специально разработанного скрипта на базе фреймворка PyGame [19]. Стимулы предъявлялись блоками, каждый из которых состоял из двух двигательных последовательностей и одной зрительной контрольной последовательности; интервалы между последовательностями варьировались случайным образом от 2 до 4 с (рис. 1). В каждой двигательной последовательности на 3,2 с предъявлялось изображение правой руки, выполняющей соответствующее действие: «нажатие» или «указание». Через 1 с после начала предъявления изображения подавались три коротких звуковых щелчка с межстимульным интервалом 600 мс. В ответ на каждый щелчок участник выполнял одно повторение требуемого в текущем условии действия. В зрительной последовательности в течение 4 с показывалось изображение со сложными геометрическими элементами, и участник про себя считал элементы выбранного типа в удобном темпе, как описано ранее [9]. Каждое условие включало 20 блоков, всего 40 моторных и 20 зрительных последовательностей; перед каждым условием участники выполняли 5–10 тренировочных блоков.

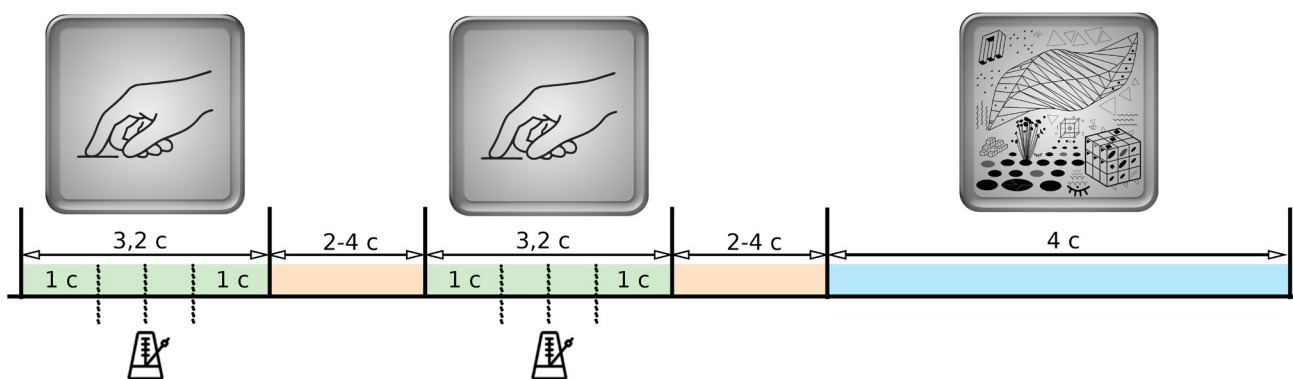


Рис. 1. Структура блока предъявления стимулов. Каждый блок состоял из двух двигательных последовательностей (зелёный) продолжительностью 3,2 с, в каждом из которых предъявлялось три звуковых сигнала с интервалом 600 мс (вертикальные пунктирные линии). В конце блока на 4 с. предъявлялась зрительная задача (синий), интервалы между двигательными последовательностями и зрительной задачей (жёлтый) варьировались случайным образом от 2 до 4 с. Изображения (сверху) приведены в качестве примера стимулов, предъявляемых на экране

Для каждого из двух действий регистрировали четыре типа движений: реальное движение (РД), кинестетическое представление движений (ПД), нецеленаправленное квазидвижение (нКД) и целенаправленное квазидвижение (цКД). Условие РД всегда выполнялось первым, ПД и нКД предъявлялись в случайном порядке, а цКД всегда выполнялось последним для данного действия. Был выбран данный порядок предъявления, так как целенаправленность вводилась через инструкцию, и более раннее предъявление цКД могло ввести преждевременную ассоциацию движения с его целенаправленным значением. Соответственно, перед условием цКД экспериментатор избегал связанных с целенаправленным действием ключевых слов, таких как «нажать», «кнопка» или «указать», описывая движение только в терминах движений в суставах. Непосредственно перед цКД то же движение было представлено заново в явно целенаправленных терминах.

Тренировка КД была адаптирована из предыдущих исследований [7, 9]. Сначала участникам демонстрировали выходной сигнал тензодатчика, и они могли убедиться, что он изменяется при движении указательного пальца. Для подчеркивания изменений сигнала отображалась сумма абсолютных разностей между текущим и задержанным сигналами, что позволяло четко идентифицировать изменения давления на датчик [20]. После того как амплитуда сигнала датчика снижалась до незначительного превышения уровня шума, участник продолжал воспроизводить движение в ответ на отдельные звуковые сигналы без зрительного контроля; если экспериментатор замечал остаточный сигнал, участнику давали дополнительную инструкцию минимизировать амплитуду. После достижения стабильного выполнения КД экспериментатор задавал контрольные вопросы для подтверждения того, что участник не переключился на представление движений или на другое непредусмотренное движение. Наконец, участники тренировались отвечать на триплеты звуковых сигналов, использовавшихся в основном эксперименте.

Тренировку ПД проводили непосредственно перед соответствующими условиями по стандартной процедуре кинестетического представления [7, 9]: участники выполняли движение с полной амплитудой, описывали возникающие кинестетические ощущения (напряжение, тяжесть, растяжение, тепло), после чего использовали их как основу для представления. Тренировка продолжалась до уверенного выполнения задачи в требуемом темпе.

Обработку проводили в MNE-Python. Каналы ЭЭГ с признаками сильного зашумления, аномальной

амплитуды или плохого контакта электрода с кожей головы детектировались автоматически с помощью *RunPREP* [21, 22] и затем их интерполировали; после этого данные преобразовывали в Лапласиановский монтаж [23, 24]. Остаточное движение количественно оценивали по сигналу тензодатчика с помощью робастной пиковой амплитуды (РПА), определяемой как разность между 95-м и 5-м перцентилями в пределах каждой эпохи. Данная метрика была выбрана, как менее подверженная влиянию единичных артефактов по сравнению с разностью минимального и максимального значений при обнаружении малых и нерегулярных остаточных движений при КД.

Анализ ЭЭГ проводили на сенсомоторной области интереса (ОИ), включающей электроды FC5, FC3, C3, C1, CP3, CP1 и FC6, FC4, C4, C2, CP4, CP2. Мощность в одиночных эпохах вычисляли методом вейвлет-преобразования Морле для каждого канала ОИ и нормализовали к базовому уровню в дБ как

$$10 \log_{10}(\text{Мощность} / \text{ПредстУровень}),$$

где ПредстУровень — средняя мощность в интервале (–1,5... –0,5 с) до первого звукового сигнала. Десинхронизация в сенсомоторном (μ) диапазоне (8–13 Гц) (далее — *event-related desynchronization, ERD*) определялась усреднением в окне (0,07... 1,5 с) относительно первого звукового сигнала. Для каждого участника и условия для анализа выбирали электрод с максимальным эффектом в пределах ОИ, как описано ранее [7].

Для проверки того, может ли целенаправленность проявляться в специфических частотных или пространственных паттернах, не выявляемых основным анализом, были проведены два дополнительных анализа. Во-первых, для той же сенсомоторной ОИ была оценена ERD в поддиапазоне верхнего μ -ритма (10–13 Гц). Во-вторых, была определена теменная ОИ, включающая электроды P3, P1, CP3, где проводили анализ в полном диапазоне (8–13 Гц). В обоих дополнительных анализах применяли те же процедуры частотно-временного разложения, нормализации к базовому уровню и выбора электродов, что и в основном анализе.

Статистический анализ выполняли в R с использованием *lmerTest* и *emmeans* для апостериорных сравнений. μ -ERD анализировали с помощью линейных моделей со смешанными эффектами (1):

$$\text{ERD} \sim \text{Действие} + \text{РПА} \times \text{ТипДвижения} + \text{ПредшЗадача} + \text{ПредстУровень} + (1 + \text{Действие} / \text{Испытуемый}) (1)$$

Таблица 1. Независимые переменные, использованные в линейных моделях со смешанными эффектами. ПД — представление движения, нКД — нецеленаправленные квазидвижения, цКД — целенаправленные квазидвижения

Имя переменной	Описание	Значения
Действие	действие	«нажатие», «указание»
РПА	робастная пиковая амплитуда	непрерывная
ТипДвижения	тип движения	ПД, нКД, цКД
ПредшЗадача	задача в предшествующей пробе	двигательная, зрительная
ПредстУровень	предстимульный уровень мощности	непрерывная
Испытуемый	идентификатор испытуемого	"1", "2" ... "11"

Описания переменных представлены в табл. 1. Случайные эффекты включали случайный интерсепт и случайный наклон для фактора Действие по испытуемым, что позволило учесть индивидуальную вариабельность как общего уровня ERD, так и различий между условиями «нажатие» и «указание». Взаимодействие между РПА и типом движения было включено для оценки вклада остаточной мышечной активности отдельно для различных типов движения. Непрерывные предикторы были нормированы (z-преобразование); РПА стандартизовали внутри каждого уровня фактора Действие. Использование линейных моделей со смешанными эффектами было обусловлено повторной внутрисубъектной структурой данных и позволяло учесть зависимость наблюдений внутри испытуемых. Статистическую значимость фиксированных эффектов оценивали с помощью F-тестов III типа (ImerTest::anova) с аппроксимацией степеней свободы по методу Саттертуэйта, где F-значения были получены из той же линейной модели, а не из отдельного дисперсионного анализа на усредненных данных. Для апостериорных сравнений уровней фактора ТипДвижения использовали оценочные маргинальные средние (emmeans) с поправкой Тьюки на множественные сравнения.

Дополнительные анализы (верхний μ -поддиапазон и темная ОИ) проводили с использованием упрощенной модели (2), из которой были исключены РПА и ее взаимодействие с типом движения (их незначимость была установлена в основном анализе), а случайная структура ограничена случайным интерсептом для обеспечения устойчивости оценок при ослабленном сигнале.

$$ERD \sim \text{Действие} + \text{ТипДвижения} + \text{ПредшЗадача} + \text{ПредстУровень} + (1 / \text{Испытуемый}) \quad (2)$$

Для анализа разницы РПА между всеми условиями применяли модель (3), построенную отдельно для условий «нажатия» и «указания», где РПА не нормировалась.

$$РПА \sim \text{ТипДвижения} + (1 / \text{Испытуемый}) \quad (3)$$

Для прямого сравнения КД с РД был проведен дополнительный анализ на подмножестве данных, включающем условия РД, нКД и цКД. Использовали упрощенную модель (4), из которой был исключен предиктор РПА, поскольку анализ показал, что РПА на 1–2 порядка выше при РД, чем при КД, и эта разница составляет содержательное различие между условиями, а не побочный

фактор. Было также добавлено взаимодействие Действие \times ТипДвижения для оценки возможных различий эффекта типа движения между нажатием и указанием.

$$ERD \sim \text{Действие} \times \text{ТипДвижения} + \text{ПредшЗадача} + \text{ПредстУровень} + (1 + \text{Действие} / \text{Испытуемый}) \quad (4)$$

Апостериорные сравнения уровней ТипДвижения проводили отдельно внутри каждого уровня Действия с помощью emmeans с поправкой Тьюки.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Участники существенно различались по проценту проб без повышенного остаточного движения в условиях КД, которое определялось как РПА, превышающая 97,5-й перцентиль РПА, наблюдавшейся в условии ПД для данного участника. Средние по группе доли эпох с повышенным остаточным движением представлены в табл. 2. Тем не менее в условиях КД ни один участник не демонстрировал РПА, превышающую минимальную РПА, наблюдавшуюся при РД (рис. 2).

F-тесты III типа для модели (3) показали, что РПА значимо различалась между условиями для обоих действий («нажатие»: $F_{3,29} = 117,55, p < 0,001$; «указание»: $F_{3,29} = 16,28, p < 0,001$). Для обоих действий апостериорные сравнения выявили одинаковый паттерн: РПА при РД была значимо выше, чем при ПД, нКД и цКД (все $p < 0,001$), тогда как неявные условия не различались между собой (все $p > 0,97$). Полный вывод модели приведен в Приложении (табл. П1).

Поскольку основной целью данного исследования было сравнение новых КД с соответствующими ПД, условие РД было исключено из анализа ERD. Анализ контралатеральной μ -ERD (рис. 3, 4) с помощью линейных моделей со смешанными эффектами выявил значимые эффекты действия ($F_{1,10,4} = 7,76, p = 0,019$), типа движения ($F_{2,2423} = 3,17, p = 0,042$), предшествующей задачи ($F_{1,2410} = 26,85, p < 0,001$) и предстимульной амплитуды ($F_{1,2416} = 23,84, p < 0,001$). Напротив, ни РПА, ни ее взаимодействие с типом движения не достигли значимости ($F_{1,2381} = 0,001, p = 0,973$ и $F_{2,2398} = 0,33, p = 0,722$ соответственно). Полный вывод модели представлен в табл. 3.

Контралатеральная μ -ERD была более выраженной для «нажатия», чем для «указания». Оба условия КД были связаны с более выраженной ERD, чем ПД. Апостериорные

Таблица 2. Средние по группе количества эпох с повышенным остаточным движением в условиях КД: нКД — нецеленаправленные квазидвижения, цКД — целенаправленные квазидвижения

	«Нажатие»	«Указание»
нКД	36,75%	44,25%
цКД	45,60%	37,80%

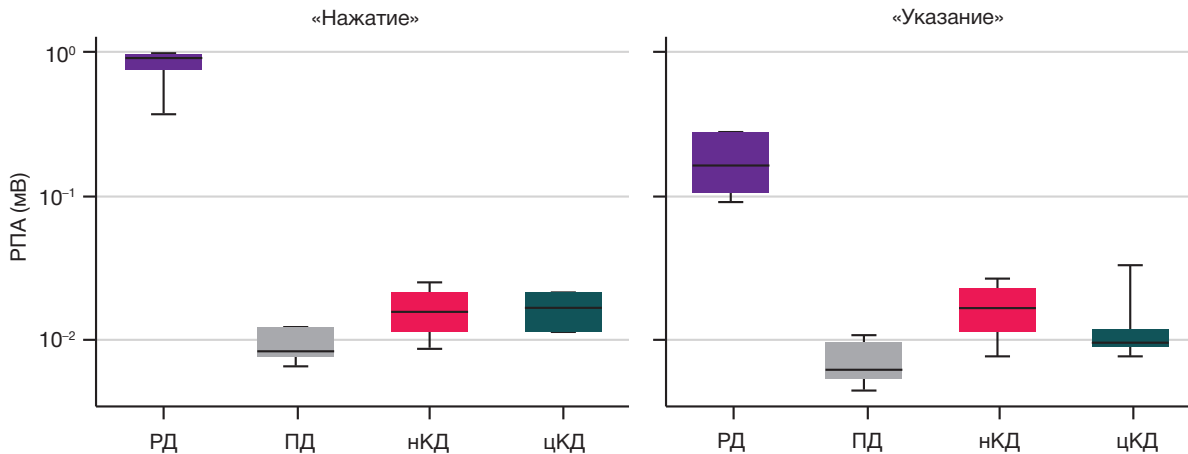


Рис. 2. Робастная пиковая амплитуда (РПА) сигнала тензодатчика для разных типов движения и действий. Боксплоты отражают медианы и межквартильные размахи, усы — размах от минимума до максимума. Ось ординат — логарифмическая шкала, РД — реальное движение, ПД — представление движения, нКД — нецеленаправленное квазидвижение, цКД — целенаправленное квазидвижение

сравнения показали погранично значимую разницу ПД–нКД (0,63 дБ, $p = 0,050$), а сравнение ПД–цКД не достигло значимости ($p = 0,073$); нКД и цКД не различались ($p > 0,999$).

Для ипсилатеральной μ -ERD анализ выявил значимые эффекты предшествующей задачи ($F_{1, 2409} = 54,33$, $p < 0,001$) и предстимульной амплитуды ($F_{1, 2419} = 9,83$, $p = 0,002$). Напротив, эффекты действия ($F_{1, 9,6} = 0,25$, $p = 0,632$), типа движения ($F_{2, 2423} = 1,53$, $p = 0,216$), РПА ($F_{1, 2402} = 0,56$, $p = 0,456$) и взаимодействия РПА и типа движения ($F_{2, 2413} = 0,29$, $p = 0,748$) были незначимы. Ни одно из попарных сравнений между типами движения не достигло значимости ($p = 0,686$ для ПД–нКД, $p = 0,782$ для ПД–цКД и $p = 0,191$ для нКД–цКД). Полный вывод модели см. в табл. П2.

Дополнительный анализ контралатеральной ERD в поддиапазоне верхнего μ -ритма (10–13 Гц) выявил значимые эффекты действия ($F_{1, 2424} = 12,29$, $p < 0,001$), типа движения ($F_{2, 2428} = 6,33$, $p = 0,002$), предшествующей задачи ($F_{1, 2422} = 14,98$, $p < 0,001$) и предстимульного уровня ($F_{1, 2426} = 71,27$, $p < 0,001$). Как и в основном анализе, ERD верхнего μ -ритма была более выраженной для «нажатия», чем для «указания». Апостериорные сравнения подтвердили, что ERD была значимо сильнее при нКД по сравнению с ПД (0,82 дБ, $p = 0,003$) и при цКД по сравнению с ПД (0,70 дБ, $p = 0,022$), тогда как нКД и цКД не различались (0,12 дБ, $p = 0,89$). Полный вывод модели см. в табл. П3.

В теменной ОИ картина существенно отличалась. Значимые эффекты были обнаружены для предшествующей задачи ($F_{1, 2422} = 26,36$, $p < 0,001$) и предстимульного

уровня ($F_{1, 2424} = 49,47$, $p < 0,001$). Напротив, эффекты действия ($F_{1, 2424} = 2,82$, $p = 0,093$) и типа движения ($F_{2, 2427} = 1,90$, $p = 0,15$) не достигли значимости. Ни одно из попарных сравнений между типами движений не было значимым (ПД–нКД: 0,45 дБ, $p = 0,13$; ПД–цКД: 0,28 дБ, $p = 0,49$; нКД–цКД: 0,17 дБ, $p = 0,78$). Полный вывод модели см. в табл. П4.

Прямое сравнение КД с РД в контралатеральной сенсомоторной ОИ выявило значимое взаимодействие действия и типа движения ($F_{2, 2388} = 3,42$, $p = 0,033$), указывающее на различный характер эффекта для двух действий. Для «нажатия» оба условия КД сопровождалось значимо более выраженной μ -ERD, чем РД: разница 0,98 дБ для нКД ($p = 0,003$) и 1,18 дБ для цКД ($p < 0,001$); нКД и цКД между собой не различались (0,20 дБ, $p = 0,82$). Для «указания» ни одно из попарных сравнений не достигло значимости (РД–нКД: 0,21 дБ, $p = 0,76$; РД–цКД: 0,04 дБ, $p = 0,99$; нКД–цКД: –0,17 дБ, $p = 0,86$). Полный вывод модели представлен в табл. П5.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Представленные выше экспериментальные результаты следует рассматривать как предварительные ввиду ограниченного числа участников, хотя данная работа основана на ранее установленном эффекте [7, 9] и была направлена на проверку его обобщаемости, а не первичное обнаружение. С учетом этих ограничений, полученные данные указывают на то, что КД могут быть распространены за пределы «классической»

Таблица 3. Полный вывод линейной модели со смешанными эффектами (1) для контралатеральной μ -ERD. В таблице приведены коэффициенты фиксированных эффектов модели; p -значения для апостериорных сравнений с поправкой Тьюки даны в тексте

Эффект	β	SE	df	t	p
Интерсепт	-10,92	0,54	14,1	-20,27	< 0,001
Действие (указание–нажатие)	0,67	0,24	10,4	2,79	0,019
РПА	0,07	0,38	2414	0,17	0,862
ТипДвижения (нКД–ПД)	-0,64	0,27	2423	-2,35	0,019
ТипДвижения (цКД–ПД)	-0,63	0,29	2428	-2,19	0,028
ПредшЗадача (моторная–зрительная)	0,96	0,19	2410	5,18	< 0,001
ПредстУровень	-0,46	0,09	2416	-4,88	< 0,001
РПА × ТипДвижения (нКД)	-0,01	0,40	2416	-0,02	0,983
РПА × ТипДвижения (цКД)	-0,17	0,42	2420	-0,42	0,675

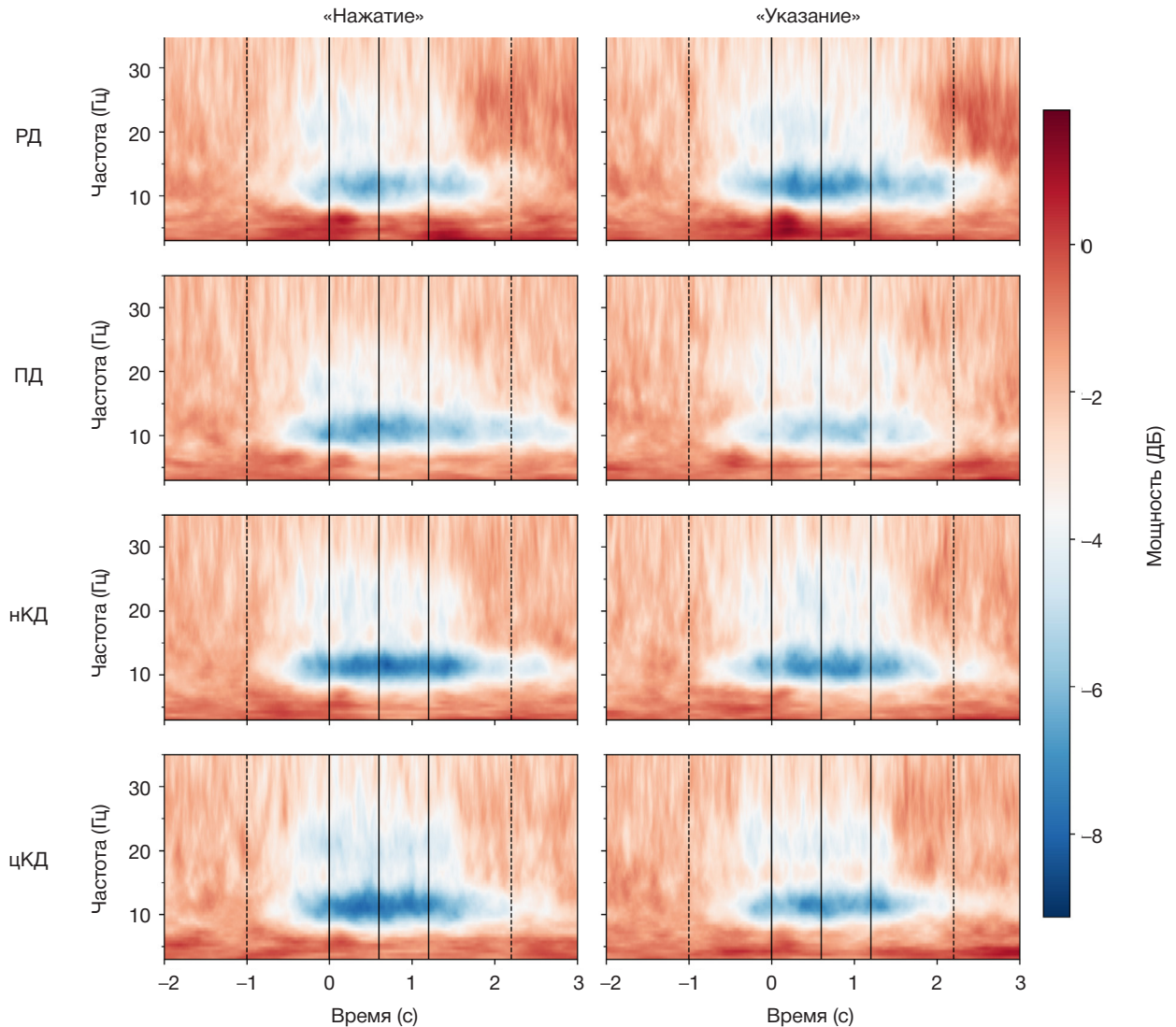


Рис. 3. Групповые усредненные частотно-временные спектрограммы мощности ЭЭГ (вейвлет-преобразование Морле) в контралатеральной сенсомоторной области интереса для разных действий и типов движений. Мощность нормирована к базовому уровню в дБ; *синий цвет* соответствует десинхронизации, красный — синхронизации. Пунктирные вертикальные линии ограничивают время предъявления зрительного стимула. Сплошные вертикальные линии соответствуют временам подачи трех звуковых сигналов. РД — реальное движение, ПД — представление движения, нКД — нецеленаправленное квазидвижение, цКД — целенаправленное квазидвижение

парадигмы отведения большого пальца [7] на более естественные действия руки, такие как нажатие и указание указательным пальцем. Основным результатом состоял в том, что оба условия КД демонстрировали более выраженную контралатеральную μ -ERD, чем ПД, тогда как значения ипсилатеральной μ -ERD не различались достоверно между условиями. Направление и величина эффектов (около 0,63 дБ) были единообразны для обоих типов КД, а в дополнительном анализе верхнего μ -поддиапазона (10–13 Гц) оба сравнения достигали значимости. Вклад остаточного движения, количественно оцененного с помощью РПА, не был значимым ни в одном полушарии. В целом данный паттерн указывает на то, что преимущество новых КД над представлением проявлялось главным образом в контралатеральной сенсомоторной активации и вряд ли может быть объяснено остаточной мышечной активацией.

В этом отношении настоящие результаты в целом согласуются с оригинальным исследованием КД, в котором α -ERD убывала в ряду РД > КД > ПД, особенно в контралатеральном полушарии [7], а также соответствуют более позднему анализу, показавшему, что более

выраженная контралатеральная ERD при КД по сравнению с ПД не может быть объяснена только остаточной мышечной активацией [9]. Таким образом, полученные данные дополняют более раннюю информацию по КД, указывая на то, что это преимущество перед представлением может быть получено и для более естественных действий руки, чем отведение большого пальца.

Отсутствие дополнительного эффекта целенаправленной инструкции заслуживает подробного рассмотрения. Имеющиеся данные указывают на то, что целенаправленность может выражаться не столько в увеличении средней ERD над центральными сенсомоторными зонами, сколько в более широком пространственном распределении и более выраженном вовлечении теменных областей, особенно в верхнем α -диапазоне [14–17, 25]. Для проверки этой возможности были проведены дополнительные анализы в верхнем μ -поддиапазоне (10–13 Гц) и теменной ОИ. В анализе верхнего μ -ритма оба условия КД вновь показали значимо более выраженную ERD по сравнению с ПД, однако нКД и цКД между собой не различались. В теменном анализе общий эффект типа движения не был значимым, контраст нКД–цКД также отсутствовал.

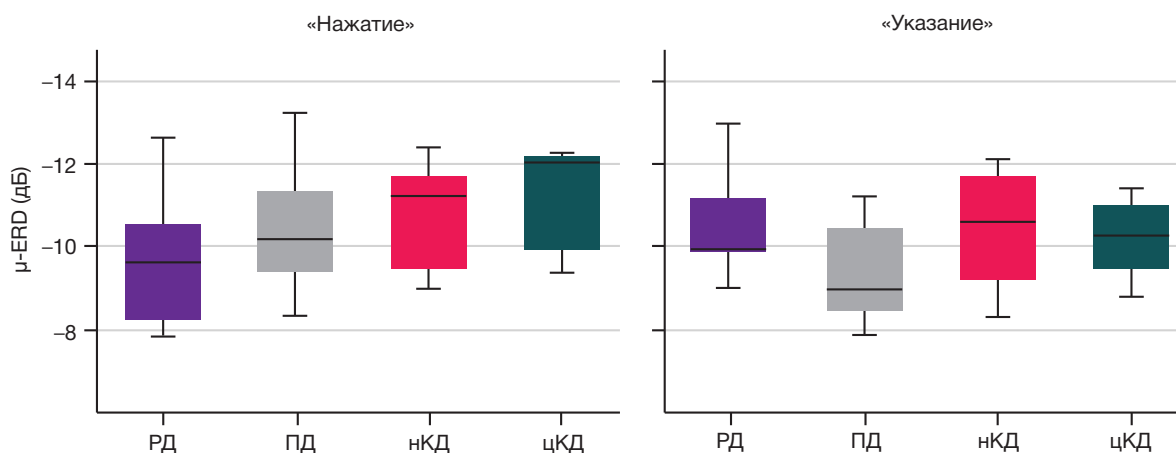


Рис. 4. Контралатеральная μ -ERD (8–13 Гц) при разных действиях и типах движениях. Более отрицательные значения соответствуют более выраженной ERD. Боксплоты отражают медианы и межквартильные размахи по испытуемым; усы — размах от минимума до максимума. РД — реальное движение, ПД — представление движения, нКД — нецеленаправленное квазидвижение, цКД — целенаправленное квазидвижение

Такому результату можно предложить несколько объяснений. Во-первых, оба использованных действия сами по себе являются высокознакомыми и естественно ассоциируются с внешними объектами и результатами. Даже номинально нецеленаправленные варианты могли сохранять часть привычного значения действия, ослабляя контраст между нКД и цКД. Во-вторых, условие цКД предъяснялось последним для каждого движения во избежание контаминации нейтральных условий, что было методологически обосновано, но могло ограничить возможность выделения чистого эффекта целенаправленности. В-третьих, и это, возможно, наиболее существенно, манипуляция целенаправленностью в настоящем исследовании носила чисто инструктивный характер: участникам предлагалось осмыслить движение в целенаправленных терминах. Напротив, исследования, выявившие эффекты целенаправленности в теменных областях и верхнем μ -диапазоне, использовали реальное достижение видимых объектов [14, 15, 17], где цель была перцептивно задана. Возможно, инструктивное обрамление само по себе недостаточно для вовлечения теменной сети планирования, обеспечивающей различение целенаправленных и нецеленаправленных действий на кортикальном уровне.

Ни главный эффект РПА, ни его взаимодействие с типом движения не были значимы в анализе μ -ERD, при этом остаточное движение при КД было статистически неотличимо от наблюдавшегося при ПД. Это свидетельствует против простейшего объяснения — что более выраженная ERD при КД просто отражала остаточное движение. Наши результаты поддерживают предположение, что КД представляют собой отдельное связанное с моторикой состояние, которое ближе к явному движению, чем представление, на кортикальном уровне, но остается при этом поведенчески неявным [9]. Направленная чувствительность тензодатчика не калибровалась отдельно, однако отсутствие диссоциации между нажатием и указанием в неявных условиях свидетельствует против этого ограничения как источника наблюдаемых эффектов.

Прямое сравнение КД с РД выявило дифференцированную картину. Для «нажатия» оба типа КД сопровождалась значимо более выраженной контралатеральной μ -ERD, чем реальное движение, тогда как для «указания» РД, нКД и цКД давали сопоставимую десинхронизацию. Преобладание ERD при «нажатии» в условиях КД над таковой при РД, на первый взгляд

несовместимое с результатами работы [7], может быть объяснено в рамках концепции нейронной эффективности: высокознакомые автоматизированные движения могут сопровождаться уменьшенной сенсомоторной ERD [26–29], тогда как КД требуют более ресурсозатратного контроля, поскольку необходимо одновременно генерировать моторную команду и подавлять ее явное выполнение [7, 30], в отличие от ПД, при котором торможение движения носит автоматический характер [30]. «Нажатие» — действие, многократно автоматизированное в повседневной жизни, и именно для него нейронная эффективность могла отчетливо проявиться. «Указание» же, по-видимому, оказалось менее автоматизированным, чем «нажатие», вопреки исходному предположению о сопоставимой привычности обоих действий, и описанной диссоциации между РД и КД для него не наблюдалось. Это согласуется с интерпретацией, что наблюдаемое преимущество КД над РД при «нажатии» связано именно с автоматизированностью реального движения, а не с общими свойствами квазидвижений как класса задач.

С точки зрения применения в ИМК, более выраженная контралатеральная μ -ERD, наблюдавшаяся при КД по сравнению с ПД, особенно отчетливо в поддиапазоне верхнего μ -ритма, согласуется с общей идеей о том, что связанные с моторикой состояния, более близкие к реальному движению, могут обеспечивать более информативные управляющие сигналы, чем классическое представление в отдельности [1]. Таким образом, наше исследование поддерживает дальнейшее развитие КД на основе естественных действий в качестве полезной промежуточной модели между представлением и явным движением, и, в частности, как модели на здоровых участниках для ИМК на основе попыток движений [7, 11]. Будущие работы должны, следовательно, включать воспроизведение на более крупной выборке, более явную манипуляцию целенаправленностью действия и тестирование этих новых КД в онлайн-парадигмах ИМК.

ВЫВОДЫ

Показано, что КД могут быть успешно реализованы не только на основе отведения большого пальца, но и на основе более естественных действий руки — нажатия и указания. Оба типа КД вызывали более выраженную активацию контралатеральной сенсомоторной коры по сравнению с кинестетическим представлением тех же

действий. Этот эффект был особенно отчетлив в поддиапазоне верхнего μ -ритма (10–13 Гц) и не объяснялся остаточным движением. Инструкция, вводящая целенаправленность, не усиливала десинхронизацию ни в сенсомоторной, ни

в теменной области. Полученные результаты указывают на перспективность КД на основе естественных действий как альтернативы представлению движений для реабилитационных интерфейсов мозг–компьютер.

Литература

- Pfurtscheller G, Neuper C. Motor imagery and direct brain-computer communication. *Proceedings of the IEEE*. 2001; 89: 1123–34. Available from: <https://doi.org/10.1109/5.939829>.
- Korda Z, Walcher S, Korner C, Benedek M. Effects of internally directed cognition on smooth pursuit eye movements: A systematic examination of perceptual decoupling. *Atten Percept Psychophys*. 2023; 85: 1159–1178. Available from: <https://doi.org/10.3758/s13414-023-02688-3>.
- Walcher S, Korda Z, Korner C, Benedek M. The effects of type and workload of internal tasks on voluntary saccades in a target-distractor saccade task. *PLoS One*. 2023; 18: e0290322. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0290322>.
- Cohen D, Nakai T, Nishimoto S. Brain networks are decoupled from external stimuli during internal cognition. *Neuroimage*. 2022; 256: 119230. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2022.119230>.
- Jeannerod M. Neural simulation of action: a unifying mechanism for motor cognition. *Neuroimage*. 2001; 14: S103–9. Available from: <https://doi.org/10.1006/nimg.2001.0832>.
- Glover S, Baran M. The motor-cognitive model of motor imagery: Evidence from timing errors in simulated reaching and grasping. *J Exp Psychol Hum Percept Perform*. 2017; 43: 1359–75. Available from: <https://doi.org/10.1037/xhp0000389>.
- Nikulin VV, Hohlefeld FU, Jacobs AM, Curio G. Quasi-movements: a novel motor-cognitive phenomenon. *Neuropsychologia*. 2008; 46: 727–42. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2007.10.008>.
- Hohlefeld FU, Nikulin VV, Curio G. Covert movements trigger repetition suppression of electroencephalography in sensorimotor cortex. *Neuroreport*. 2011; 22: 141–5. Available from: <https://doi.org/10.1097/WNR.0b013e3283436d84>.
- Vasilyev AN, Yashin AS, Shishkin SL. Quasi-Movements and "Quasi-Quasi-Movements": Does Residual Muscle Activation Matter? *Life (Basel)*. 2023; 13. Available from: <https://doi.org/10.3390/life13020303>.
- Yashin AS, Shishkin SL, Vasilyev AN. Is there a continuum of agentive awareness across physical and mental actions? The case of quasi-movements. *Conscious Cogn*. 2023; 112: 103531. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.concog.2023.103531>.
- Yashin AS, Vasilyev AN, Shevtsova YG, Shishkin SL. Can Quasi-Movements be Used as a Model of the BCI Based on Attempted Movements? 2024 IEEE International Conference on Systems, Man, and Cybernetics (SMC). 2024: 2028–33. Available from: <https://doi.org/10.1109/SMC54092.2024.10831475>.
- Blokland Y, Spyrou L, Lerou J, Mourisse J, Jan Scheffer G, van Geffen GJ, et al. Detection of attempted movement from the EEG during neuromuscular block: proof of principle study in awake volunteers. *Sci Rep*. 2015; 5: 12815. Available from: <https://doi.org/10.1038/srep12815>.
- Mansour S, Ang KK, Nair KPS, Phua KS, Arvaneh M. Efficacy of Brain-Computer Interface and the Impact of Its Design Characteristics on Poststroke Upper-limb Rehabilitation: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Clin EEG Neurosci*. 2022; 53: 79–90. Available from: <https://doi.org/10.1177/15500594211009065>.
- Pereira J, Ofner P, Muller-Putz GR. Goal-directed or aimless? EEG differences during the preparation of a reach-and-touch task. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc*. 2015; 2015: 1488–91. Available from: <https://doi.org/10.1109/EMBC.2015.7318652>.
- Pereira J, Ofner P, Schwarz A, Sburlea AI, Muller-Putz GR. EEG neural correlates of goal-directed movement intention. *Neuroimage*. 2017; 149: 129–40. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2017.01.030>.
- Pfurtscheller G, Neuper C, Krausz G. Functional dissociation of lower and upper frequency μ rhythms in relation to voluntary limb movement. *Clin Neurophysiol*. 2000; 111: 1873–9. Available from: [https://doi.org/10.1016/s1388-2457\(00\)00428-4](https://doi.org/10.1016/s1388-2457(00)00428-4).
- Fumuro T, Matsuhashi M, Miyazaki T, Inouchi M, Hitomi T, Matsumoto R, et al. Alpha-band desynchronization in human parietal area during reach planning. *Clin Neurophysiol*. 2015; 126: 756–62. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2014.07.026>.
- Nuzhdin YO. RESONANCE — A BCI FRAMEWORK FOR WORKING WITH MULTIPLE DATA SOURCES. 8th Graz Brain-Computer Interface Conference. 2019. Available from: <https://doi.org/10.3217/978-3-85125-682-6-15>.
- PyGame. Available from: <https://www.pygame.org/> (Accessed: 17.04.2026).
- Wiktorowski T, Krolak A. Extended approach to sum of absolute differences method for improved identification of periods in biomedical time series. *MethodsX*. 2020; 7: 101094. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mex.2020.101094>.
- Appelhoff S, Hurst AJ, Lawrence A, Li A, Mantilla Ramos YJ, O'Reilly C, et al. PyPREP: A Python implementation of the preprocessing pipeline (PREP) for EEG data. Available from: <https://doi.org/10.5281/zenodo.6363575>.
- Bigdely-Shamlo N, Mullen T, Kothe C, Su KM, Robbins KA. The PREP pipeline: standardized preprocessing for large-scale EEG analysis. *Front Neuroinform*. 2015; 9: 16. Available from: <https://doi.org/10.3389/fninf.2015.00016>.
- Kayser J, Tenke CE. On the benefits of using surface Laplacian (current source density) methodology in electrophysiology. *Int J Psychophysiol*. 2015; 97: 171–3. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2015.06.001>.
- Слезкин А. А., Степина С. П., Гусейн-заде Н. Г. Локальный пространственный анализ ЭЭГ-сигналов с помощью лапласиановского монтажа. *Российский технологический журнал*. 2024; 12 (1): 92–100. Available from: <https://doi.org/10.32362/2500-316X-2024-12-1-92-100>.
- Labyt E, Szurhaj W, Bourriez JL, Cassim F, Defebvre L, Destee A, et al. Changes in oscillatory cortical activity related to a visuomotor task in young and elderly healthy subjects. *Clin Neurophysiol*. 2003; 114: 1153–66. Available from: [https://doi.org/10.1016/s1388-2457\(03\)00058-0](https://doi.org/10.1016/s1388-2457(03)00058-0).
- Del Percio C, Babiloni C, Bertollo M, Marzano N, Iacoboni M, Infarinato F, et al. Visuo-attentional and sensorimotor alpha rhythms are related to visuo-motor performance in athletes. *Hum Brain Mapp*. 2009; 30: 3527–40. Available from: <https://doi.org/10.1002/hbm.20776>.
- Del Percio C, Infarinato F, Iacoboni M, Marzano N, Soricelli A, Aschieri P, et al. Movement-related desynchronization of alpha rhythms is lower in athletes than non-athletes: a high-resolution EEG study. *Clin Neurophysiol*. 2010; 121: 482–91. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2009.12.004>.
- Kerick SE, Douglass LW, Hatfield BD. Cerebral cortical adaptations associated with visuomotor practice. *Med Sci Sports Exerc*. 2004; 36: 118–29. Available from: <https://doi.org/10.1249/01.MSS.0000106176.31784.D4>.
- Wright DJ, Holmes P, Di Russo F, Loporto M, Smith D. Reduced motor cortex activity during movement preparation following a period of motor skill practice. *PLoS One*. 2012; 7: e51886. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051886>.
- Angelini M, Calbi M, Ferrari A, Sbriscia-Fioretti B, Franca M, Gallese V, et al. Motor Inhibition during Overt and Covert Actions: An Electrical Neuroimaging Study. *PLoS One*. 2015; 10: e0126800. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126800>.

References

- Pfurtscheller G, Neuper C. Motor imagery and direct brain-computer communication. *Proceedings of the IEEE*. 2001; 89: 1123–34. Available from: <https://doi.org/10.1109/5.939829>.
- Korda Z, Walcher S, Korner C, Benedek M. Effects of internally directed cognition on smooth pursuit eye movements: A systematic examination of perceptual decoupling. *Atten Percept Psychophys*. 2023; 85: 1159–1178. Available from: <https://doi.org/10.3758/s13414-023-02688-3>.
- Walcher S, Korda Z, Korner C, Benedek M. The effects of type and workload of internal tasks on voluntary saccades in a target-distractor saccade task. *PLoS One*. 2023; 18: e0290322. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0290322>.
- Cohen D, Nakai T, Nishimoto S. Brain networks are decoupled from external stimuli during internal cognition. *Neuroimage*. 2022; 256: 119230. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2022.119230>.
- Jeannerod M. Neural simulation of action: a unifying mechanism for motor cognition. *Neuroimage*. 2001; 14: S103–9. Available from: <https://doi.org/10.1006/nimg.2001.0832>.
- Glover S, Baran M. The motor-cognitive model of motor imagery: Evidence from timing errors in simulated reaching and grasping. *J Exp Psychol Hum Percept Perform*. 2017; 43: 1359–75. Available from: <https://doi.org/10.1037/xhp0000389>.
- Nikulin VV, Hohlefeld FU, Jacobs AM, Curio G. Quasi-movements: a novel motor-cognitive phenomenon. *Neuropsychologia*. 2008; 46: 727–42. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2007.10.008>.
- Hohlefeld FU, Nikulin VV, Curio G. Covert movements trigger repetition suppression of electroencephalography in sensorimotor cortex. *Neuroreport*. 2011; 22: 141–5. Available from: <https://doi.org/10.1097/WNR.0b013e3283436d84>.
- Vasilyev AN, Yashin AS, Shishkin SL. Quasi-Movements and "Quasi-Quasi-Movements": Does Residual Muscle Activation Matter? *Life (Basel)*. 2023; 13. Available from: <https://doi.org/10.3390/life13020303>.
- Yashin AS, Shishkin SL, Vasilyev AN. Is there a continuum of agentive awareness across physical and mental actions? The case of quasi-movements. *Conscious Cogn*. 2023; 112: 103531. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.concog.2023.103531>.
- Yashin AS, Vasilyev AN, Shevtsova YG, Shishkin SL. Can Quasi-Movements be Used as a Model of the BCI Based on Attempted Movements? 2024 IEEE International Conference on Systems, Man, and Cybernetics (SMC). 2024: 2028–33. Available from: <https://doi.org/10.1109/SMC54092.2024.10831475>.
- Blokland Y, Spyrou L, Lerou J, Mourisse J, Jan Scheffer G, van Geffen GJ, et al. Detection of attempted movement from the EEG during neuromuscular block: proof of principle study in awake volunteers. *Sci Rep*. 2015; 5: 12815. Available from: <https://doi.org/10.1038/srep12815>.
- Mansour S, Ang KK, Nair KPS, Phua KS, Arvanah M. Efficacy of Brain-Computer Interface and the Impact of Its Design Characteristics on Poststroke Upper-limb Rehabilitation: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Clin EEG Neurosci*. 2022; 53: 79–90. Available from: <https://doi.org/10.1177/15500594211009065>.
- Pereira J, Ofner P, Muller-Putz GR. Goal-directed or aimless? EEG differences during the preparation of a reach-and-touch task. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc*. 2015; 2015: 1488–91. Available from: <https://doi.org/10.1109/EMBC.2015.7318652>.
- Pereira J, Ofner P, Schwarz A, Sburlea AI, Muller-Putz GR. EEG neural correlates of goal-directed movement intention. *Neuroimage*. 2017; 149: 129–40. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2017.01.030>.
- Pfurtscheller G, Neuper C, Krausz G. Functional dissociation of lower and upper frequency mu rhythms in relation to voluntary limb movement. *Clin Neurophysiol*. 2000; 111: 1873–9. Available from: [https://doi.org/10.1016/s1388-2457\(00\)00428-4](https://doi.org/10.1016/s1388-2457(00)00428-4).
- Fumuro T, Matsushashi M, Miyazaki T, Inouchi M, Hitomi T, Matsumoto R, et al. Alpha-band desynchronization in human parietal area during reach planning. *Clin Neurophysiol*. 2015; 126: 756–62. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2014.07.026>.
- Nuzhdin YO. RESONANCE — A BCI FRAMEWORK FOR WORKING WITH MULTIPLE DATA SOURCES. 8th Graz Brain-Computer Interface Conference. 2019. Available from: <https://doi.org/10.3217/978-3-85125-682-6-15>.
- PyGame. Available from: <https://www.pygame.org/> (Accessed: 17.04.2026).
- Wiktorski T, Krolak A. Extended approach to sum of absolute differences method for improved identification of periods in biomedical time series. *MethodsX*. 2020; 7: 101094. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mex.2020.101094>.
- Appelhoff S, Hurst AJ, Lawrence A, Li A, Mantilla Ramos YJ, O'Reilly C, et al. PyPREP: A Python implementation of the preprocessing pipeline (PREP) for EEG data. Available from: <https://doi.org/10.5281/zenodo.6363575>.
- Bigdely-Shamlo N, Mullen T, Kothe C, Su KM, Robbins KA. The PREP pipeline: standardized preprocessing for large-scale EEG analysis. *Front Neuroinform*. 2015; 9: 16. Available from: <https://doi.org/10.3389/fninf.2015.00016>.
- Kayser J, Tenke CE. On the benefits of using surface Laplacian (current source density) methodology in electrophysiology. *Int J Psychophysiol*. 2015; 97: 171–3. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2015.06.001>.
- Slezkin AA, Stepina SP, Gusejn-zade NG. Lokal'nyj prostranstvennyj analiz EEG-signalov s pomoshch'yu laplasianovskogo montazha. *Rossijskij tekhnologicheskij zhurnal*. 2024; 12(1): 92–100. Available from: <https://doi.org/10.32362/2500-316X-2024-12-1-92-100>. Russian.
- Labyt E, Szurhaj W, Bourriez JL, Cassim F, Defebvre L, Destee A, et al. Changes in oscillatory cortical activity related to a visuomotor task in young and elderly healthy subjects. *Clin Neurophysiol*. 2003; 114: 1153–66. Available from: [https://doi.org/10.1016/s1388-2457\(03\)00058-0](https://doi.org/10.1016/s1388-2457(03)00058-0).
- Del Percio C, Babiloni C, Bertollo M, Marzano N, Iacoboni M, Infarinato F, et al. Visuo-attentional and sensorimotor alpha rhythms are related to visuo-motor performance in athletes. *Hum Brain Mapp*. 2009; 30: 3527–40. Available from: <https://doi.org/10.1002/hbm.20776>.
- Del Percio C, Infarinato F, Iacoboni M, Marzano N, Soricelli A, Aschieri P, et al. Movement-related desynchronization of alpha rhythms is lower in athletes than non-athletes: a high-resolution EEG study. *Clin Neurophysiol*. 2010; 121: 482–91. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2009.12.004>.
- Kerick SE, Douglass LW, Hatfield BD. Cerebral cortical adaptations associated with visuomotor practice. *Med Sci Sports Exerc*. 2004; 36: 118–29. Available from: <https://doi.org/10.1249/01.MSS.0000106176.31784.D4>.
- Wright DJ, Holmes P, Di Russo F, Loporto M, Smith D. Reduced motor cortex activity during movement preparation following a period of motor skill practice. *PLoS One*. 2012; 7: e51886. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051886>.
- Angelini M, Calbi M, Ferrari A, Sbriscia-Fioretti B, Franca M, Gallese V, et al. Motor Inhibition during Overt and Covert Actions: An Electrical Neuroimaging Study. *PLoS One*. 2015; 10: e0126800. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126800>.

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМИОСТИМУЛЯЦИИ НА ФИЗИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ И СИЛУ МЫШЦ БРЮШНОЙ СТЕНКИ БОЛЬНЫХ ПОСЛЕ СЕПАРАЦИОННОЙ ГЕРНИОПЛАСТИКИ

Н. А. Демин^{1,2}, Е. Е. Ачкасов¹, Б. А. Поляев², А. А. Шишкин², А. И. Медведева³, О. Е. Останин²✉

¹ Первый московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

² Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова (Пироговский Университет), Москва, Россия

³ Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы (РУДН), Москва, Россия

В связи с высокой распространенностью послеоперационных вентральных грыж необходима разработка эффективных протоколов реабилитации, направленных на раннее восстановление функции мышц брюшного пресса и снижение риска рецидива. Целью работы было оценить влияние электромиостимуляции (ЭМС) мышц передней брюшной стенки на уровень физической активности и силовые показатели у пациентов после хирургического лечения послеоперационных вентральных грыж. В исследовании участвовало 128 пациентов (47,9 ± 8,6 лет), перенесших открытую комбинированную сепарационную герниопластику с ретромускулярной установкой сетчатого импланта. Пациентам в основной группе ($n = 64$) с 10-х суток после операции проводили курс ЭМС передней брюшной стенки аппаратом COMPEX SP-2.0, в контрольной ($n = 64$) — стандартные послеоперационные мероприятия. Оценивали уровень физической активности (шагометрия за 7 суток) и силу мышц туловища (тензодинамометрия, Back-Check 700). Через 6 месяцев после операции в группе ЭМС зафиксировано значимое увеличение силы мышц: при разгибании туловища медиана силы составила 26,9 кг против 15,4 кг в контроле (прирост на 74,7%; $p < 0,001$); при сгибании — 15,7 кг против 8,0 кг в контроле (прирост на 96,3%; $p < 0,001$). Уровень физической активности в группе ЭМС был статистически значимо выше: медиана числа шагов за неделю — 27304,5 ± 2903,48 (95% ДИ 20964,6–33644,5) в контрольной группе — 11173,6 ± 3688,8 (95% ДИ 10065,4–12281,9) шагов, что соответствует восстановлению до 90,0% от исходного дооперационного уровня. Таким образом, курс ЭМС мышц передней брюшной стенки, начатый в ранние сроки после герниопластики, является эффективным методом реабилитации, достоверно улучшающим силовые характеристики мышц кора и восстанавливающим физическую активность пациентов.

Ключевые слова: электромиостимуляция, послеоперационная реабилитация, вентральные грыжи, герниопластика, миостимуляция

Вклад авторов: Н. А. Демин — разработка дизайна исследования, сбор данных, написание текста; Е. Е. Ачкасов — научное руководство, экспертный контроль, редактирование; Б. А. Поляев — экспертный контроль, редактирование; А. А. Шишкин — статистическая обработка данных; А. И. Медведева — сбор клинических данных, написание текста; О. Е. Останин — сбор клинических данных, статистическая обработка.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом ФГАОУ ВО ПМГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (протокол № 08-19 от 05 июня 2019 г.), проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией 2013 г. Все пациенты подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Олег Евгеньевич Останин
ул. Никитина, д. 20, г. Москва, 108811, Россия. ostanin.oleg2011@yandex.ru

Статья получена: 29.03.2026 **Статья принята к печати:** 28.04.2026 **Опубликована онлайн:** 13.05.2026

DOI: 10.24075/vrgmu.2026.021

Авторские права: © 2026 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/>).

EFFECT OF ELECTROMYOSTIMULATION ON ABDOMINAL WALL MUSCLE ACTIVITY AND STRENGTH AFTER SEPARATION HERNIOPLASTY (COMPONENT SEPARATION TECHNIQUE)

Demin NA^{1,2}, Achkasov EE¹, Polyayev BA², Shishkin AA², Medvedeva AI³, Ostanin OE²✉

¹ Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

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

³ Peoples' Friendship University of Russia (RUDN), Moscow, Russia

High prevalence of postoperative ventral hernias necessitates the development of effective rehabilitation protocols to restore abdominal muscle function early and reduce recurrence risk. This study aimed to evaluate the effects of electromyostimulation (EMS) of the anterior abdominal wall muscles on physical activity levels and strength performance in patients after surgical treatment for postoperative ventral hernias. We enrolled 128 patients (mean age, 47.9 ± 8.6 years) who underwent open combined component separation surgery with retromuscular mesh implantation. In the treatment group ($n = 64$), the course of anterior abdominal wall EMS (enabled by COMPEX SP-2.0) started on the 10th day after surgery; in the control group ($n = 64$), we followed a standard post-surgery protocol. The assessed indicators were the level of physical activity (pedometry, 7 days) and the strength of the trunk muscles (strain dynamometry, registered with a BackCheck 700 device). Six months after surgery, the EMS group showed significantly greater muscle strength gains than the control group: in trunk extension, median strength was 26.9 kg versus 15.4 kg (74.7% increase; $p < 0.001$); in flexion, it was 15.7 kg versus 8.0 kg (96.3% increase; $p < 0.001$). The level of physical activity in the EMS group was significantly higher: the median number of steps per week was 27304.5 ± 2903.48 (95% CI 20964.6–33644.5), while in the control group it reached 11173.6 ± 3688.8 (95% CI 10065.4–12281.9) steps. This indicates a recovery to 90.0% of the preoperative level. Thus, an early post-surgery course of EMS of the anterior abdominal wall muscles is an effective rehabilitation method that significantly improves the strength characteristics of the core muscles and restores the levels of physical activity in patients.

Keywords: electromyostimulation, postoperative rehabilitation, ventral hernias, hernioplasty, component separation technique, myostimulation

Author contribution: Demin NA — study design, data collection, text authoring; Achkasov EE — research supervision, expert control, editing; Polyayev BA — expert control, editing; Shishkin AA — statistical data processing; Medvedeva AI — clinical data collection, text authoring; Ostanin OE — clinical data collection, statistical processing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Sechenov Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Minutes No. 08-19 of June 05, 2019), and conducted in accordance with the 2013 Declaration of Helsinki. All patients signed a voluntary informed consent to participate in the study.

✉ **Correspondence should be addressed:** Oleg E. Ostanin
Nikitina, 20, Moscow, 108811, Russia. ostanin.oleg2011@yandex.ru

Received: 29.03.2026 **Accepted:** 28.04.2026 **Published online:** 13.05.2026

DOI: 10.24075/brsmu.2026.021

Copyright: © 2026 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/>).

Хирургическое лечение послеоперационных вентральных грыж (ПВГ), несмотря на постоянное совершенствование методики, остается серьезной проблемой абдоминальной хирургии [1]. Ключевым фактором, обуславливающим высокий риск рецидива и нарушение функциональной целостности передней брюшной стенки, является послеоперационная дисфункция мышц [2]. Формирование грыжевого дефекта и последующее оперативное вмешательство неизбежно приводят к повреждению нервно-мышечных структур, нарушению проприоцепции, атрофии и ослаблению мышечного корсета, что в итоге проявляется снижением мышечной силы и выносливости [3].

Восстановление функциональной состоятельности мышц является центральной задачей реабилитационного периода [4]. Традиционно оно достигается за счет лечебной физкультуры, однако ее раннее начало часто ограничено из-за болевого синдрома и риска осложнений [5]. В этой связи особую актуальность приобретают методы физической и физиотерапевтической терапии, позволяющие начать реабилитацию в ранние сроки. Среди них наиболее перспективным представляется метод аппаратной электромиостимуляции (ЭМС) мышц передней брюшной стенки [6, 7].

ЭМС позволяет целенаправленно активировать мышечные волокна, улучшить их трофику, предотвратить атрофию и поддерживать мышечный тонус в тот период, когда активные движения пациента еще затруднены [6]. Таким образом, изучение эффективности различных методов физиотерапии и, в частности, послеоперационной аппаратной миостимуляции, для восстановления функциональных параметров мышц крайне важно [8]. Это позволит приблизиться к разработке научно обоснованных реабилитационных протоколов, направленных на сокращение сроков восстановления, улучшение качества жизни пациентов и снижение частоты рецидивов ПВГ.

Цель исследования — оценить влияние электромиостимуляции мышц передней брюшной стенки в отношении уровня физической активности и силы мышц брюшной стенки среди пациентов после хирургического лечения послеоперационных вентральных грыж.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Проспективное пилотное клиническое исследование проведено на базе ГБУЗ «Городская клиническая больница № 67 им. Л. А. Ворохобова» Департамента здравоохранения г. Москвы в период 2019–2024 гг. В него было включено 128 пациентов в возрасте 28–83 лет ($47,9 \pm 8,6$ лет), перенесших плановое хирургическое лечение по поводу ПВГ больших размеров (средний размер грыжевого дефекта составил $150,4 \pm 38,1$ см³, от 103,0 см³ до 351,3 см³) в виде открытой комбинированной сепарационной герниопластики с установкой полипропиленового сетчатого импланта размерами 15,0 × 15,0 см в ретромускулярном пространстве.

Таблица. Исходная характеристика пациентов исследуемых групп

Показатели	Группа		p
	I	II	
Возраст (лет), M (SD)	44,0 (10,5)	45,7 (11,9)	0,429
Возрастные группы, M (SD)	2,56 (1,10)	2,53 (1,16)	0,904
ИМТ, M (SD)	29,32 (3,11)	30,63 (4,29)	0,074

Критерии включения пациентов в исследование: стабильная работа имплантированного ретикулярного протеза; отсутствие осложнений раннего послеоперационного периода (включая инфекцию операционной раны, формирование гематом, тромботические события, легочную инфекцию, рецидивирование пролиферативной витреоретинопатии и иные ранние постхирургические нарушения); наличие информированного добровольного согласия на участие в клиническом исследовании; техническая возможность и готовность к регулярному дистанционному взаимодействию с исследовательской группой по мобильной связи; значение индекса массы тела, не превышающее 39,9 кг/м²; отсутствие сахарного диабета в декомпенсированной форме, а также хронических патологий дыхательной и сердечно-сосудистой систем; отсутствие заболеваний опорно-двигательного аппарата, ограничивающих физическую активность; отсутствие злокачественных новообразований.

Критерии исключения из исследования: наличие рецидивной ПВГ, тяжелая соматическая патология в стадии декомпенсации, острые инфекционные процессы, наличие в анамнезе эпилепсии или имплантированного электронного устройства (кардиостимулятора, дефибриллятора), беременность и лактация, а также отказ пациента от участия в программе реабилитации.

После проведения оперативного лечения пациенты методом простой рандомизации с использованием таблицы случайных чисел были распределены на две репрезентативные группы, сопоставимые по полу, возрасту, индексу массы тела и исходным характеристикам грыжевого дефекта. В контрольной группе (группа I: $n = 64$) пациенты находились на стандартном послеоперационном лечении, которое помимо медикаментозной терапии, включало раннюю физическую активизацию, дыхательную гимнастику и динамическое наблюдение без дополнительного физиотерапевтического воздействия. В сравнительной группе II ($n = 64$) пациенты на фоне стандартного послеоперационного ведения получали курс аппаратной электромиостимуляции (ЭМС) мышц передней брюшной стенки.

Группы были сопоставимы по возрасту, индексу массы тела и распределению по возрастным группам ($p > 0,05$ для всех сравнений), что подтверждает корректность проведенной рандомизации и позволяет исключить влияние указанных факторов на результаты исследования (таблица).

Курс электромиостимуляции в сравнительной группе начинали с 10-х суток после герниопластики, что было обусловлено необходимостью завершения раннего послеоперационного периода и снижения риска местных воспалительных осложнений. Для проведения процедур использовали сертифицированный многоканальный миостимулятор COMPEX SP-2.0 (Comrex Medical, Швейцария). Процедуры проводили квалифицированные физиотерапевты в условиях перевязочного кабинета.

Клеящиеся электроды устанавливали на кожу в проекции средней трети прямых и косых мышц живота с обеих сторон.

Параметры стимуляции были подобраны на основе данных доказательной медицины и рекомендаций производителя аппарата для реабилитационных программ: режим «Укрепление» (Strength), частота импульсов составляла 50,0–70,0 Гц, длительность импульса — 300,0–400,0 мкс, длительность паузы между сериями импульсов — 10,0 с, время подъема импульса (Ramp Up) — 2,0 с, время спада импульса (Ramp Down) — 1,0 с. Силу тока подбирали индивидуально для каждого пациента до достижения визуальных признаков выраженного безболезненного мышечного сокращения. Продолжительность одной процедуры на начальном этапе составляла 5,0 мин с постепенным увеличением до 10,0 мин к концу первой недели терапии. Курс лечения состоял из 12 процедур, проводимых с регулярностью 3 сеанса в неделю по 1 сеансу в 2 суток, в течение 4 недель.

Основным методом оценки силы мышц передней брюшной стенки служила тензодинамометрия (ТДМ), которую проводили участникам дважды: за несколько суток до хирургического лечения и на 38–40-е сутки после операции (после завершения всего курса реабилитации в обеих группах). Для проведения измерений использовали компьютерный мышечный тестер (динамометр) Back-Check 700 (Dr. Wolff GmbH, Германия). Исследование проводили в стандартизованных условиях, при этом пациент располагался на платформе прибора, где его стопы находились на стандартной ширине плеч, а таз и бедра фиксировались для стабилизации положения. Для локального определения силы мышц живота при сгибании туловища измерительный рычаг с грудным упором устанавливали на уровне грудины, после чего пациент по команде выполнял плавное максимальное изометрическое усилие, стараясь согнуться вперед в течение 3–5 секунд. Для оценки силы при разгибании туловища упор устанавливали на спину в нижнегрудном отделе, и пациент выполнял аналогичное максимальное усилие, стараясь разогнуться назад. Между попытками обеспечивали отдых не менее 30 с. В каждом направлении движения выполняли по 2–3 успешные попытки, а аппаратно-программный комплекс регистрировал максимальную силу в килограммах, отображая отдельный показатель для мышц-сгибателей и отдельный показатель для мышц-разгибателей. Для дальнейшего анализа использовали наилучший результат из зарегистрированных попыток.

Уровень физической активности (ФА) пациентов оценивали по количеству шагов, пройденных за 7 суток. Измерение проводили до начала, через 3 и 6 месяцев после завершения курса ЭМС. При оценке ФА использовали наручный шагомер. Данный метод позволил количественно оценить динамику восстановления повседневной активности пациентов в послеоперационном периоде.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием компьютерной программы StatTech v.2.8.0 (ООО «Статтех», Россия) на базе операционной системы Windows 11® (Microsoft, США). Проверку количественных данных на нормальность распределения осуществляли с помощью критерия Шапиро–Уилка. Для сравнения независимых выборок применяли *t*-критерий Стьюдента для параметрических данных и *U*-критерий Манна–Уитни для непараметрических. Для сравнения показателей до и после лечения внутри групп использовали парный *t*-критерий или критерий Уилкоксона. Качественные признаки сравнивали с

помощью критерия хи-квадрат (χ^2). Различия считали статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При анализе уровня ФА до герниопластики между группами наблюдали статистически значимые различия ($p = 0,049$) — согласно данным *t*-критерия Стьюдента, в группе I (без ЭМС) средний уровень ФА составил $8618,3 \pm 4057,8$ (95% ДИ 7399,2–9837,4), в группе II (с ЭМС) — $11316,9 \pm 8588,8$ (95% ДИ 9441,5–13192,3). При анализе через 3 месяца после операции с применением *t*-критерия Уэлча также установлены статистически значимые межгрупповые различия ($p < 0,001$): в группе I — $7801,5 \pm 1969,2$ (95% ДИ 7209,9–8393,1), в группе II — $14517,6 \pm 8070,8$ (95% ДИ 12755,3–16279,9). Сохранение значимых различий зафиксировано и через 6 месяцев ($p < 0,001$, *t*-критерий Уэлча): в группе I — $11173,6 \pm 3688,8$ (95% ДИ 10065,4–12281,9), в группе II — $27304,5 \pm 2903,8$ (95% ДИ 20964,6–33644,5). Внутригрупповой анализ с помощью критерия Фишера с повторными измерениями продемонстрировал статистически значимую динамику уровня физической активности в обеих группах ($p < 0,001$). В группе I значимое увеличение показателя произошло между 3 и 6 месяцами ($p < 0,001$), тогда как в группе II статистически значимый прирост регистрировался уже к 3 месяцу после операции ($p < 0,001$), сохраняясь и к 6 месяцу ($p < 0,001$), что отражает более ранний и выраженный эффект, связанный с применением ЭМС (рис. 1).

Анализ показателей ТДМ в тесте на разгибание туловища также продемонстрировал эффективность ЭМС. Межгрупповое сравнение по *U*-критерию Манна–Уитни до вмешательства показало отсутствие статистически значимых различий (группа I: $Me = 12,9$, $Q_1-Q_3 = 8,1-18,4$; группа II: $Me = 10,7$, $Q_1-Q_3 = 6,9-17,3$; $p = 0,215$). Через 6 месяцев послеоперационное межгрупповое сравнение тем же методом выявило, что в группе с ЭМС был зафиксирован достоверно более высокий результат (группа I: $Me = 15,4$, $Q_1-Q_3 = 10,7-20,8$; группа II: $Me = 26,9$, $Q_1-Q_3 = 19,4-32,7$; $p < 0,001$). Для оценки внутригрупповых периоперационных изменений был применен критерий Уилкоксона, который подтвердил наличие статистически значимых улучшений в обеих группах ($p < 0,001$), однако абсолютный прирост силы разгибания в группе II был существенно выше (рис. 2).

При оценке силы сгибания туловища межгрупповой анализ по *U*-критерию Манна–Уитни до лечения показал наличие статистически значимых различий (группа I: $Me = 4,9$, $Q_1-Q_3 = 3,1-6,3$; группа II: $Me = 3,8$, $Q_1-Q_3 = 2,2-5,2$; $p = 0,041$). После лечения через 6 месяцев межгрупповое сравнение тем же методом показало, что разрыв между группами не только сохранился, но и значительно увеличился (группа I: $Me = 8,0$, $Q_1-Q_3 = 5,5-12,0$; группа II: $Me = 15,7$, $Q_1-Q_3 = 11,9-20,0$; $p < 0,001$). Внутригрупповой анализ с использованием критерия Уилкоксона подтвердил наличие статистически значимой положительной динамики внутри каждой из групп ($p < 0,001$), но итоговые результаты в группе пациентов, получавших ЭМС, были более чем в два раза выше, чем в группе без мышечной стимуляции (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведенное исследование демонстрирует, что применение курса ЭМС мышц передней брюшной стенки после

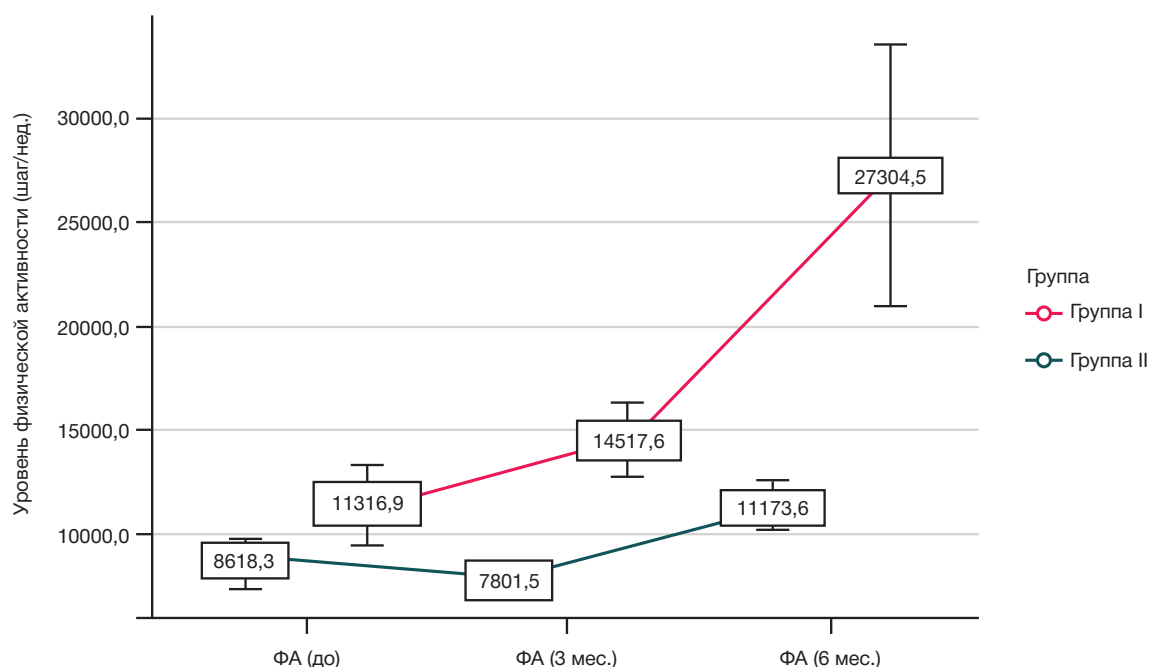


Рис. 1. Динамика физической активности пациентов в исследуемых группах

герниопластики по поводу послеоперационных вентральных грыж оказывает статистически значимое и клинически важное положительное влияние как на уровень физической активности, так и на силовые показатели мышц.

Полученные результаты убедительно свидетельствуют об эффективности данного метода в качестве одного из компонентов ранней реабилитации. Анализ динамики уровня ФА выявил, что, несмотря на исходные межгрупповые различия, уже к 3-му и 6-му месяцу послеоперационного периода в группе, получавшей ЭМС, был зафиксирован достоверно более высокий прирост количества пройденных шагов за неделю ($p < 0,001$). Данный результат логично объясняется тем, что целенаправленное укрепление мышц брюшного пресса

за счет физической активности и послеоперационной ЭМС создает более стабильный и функциональный мышечный корсет, и это потенциально нивелирует чувство дискомфорта при движении.

Наиболее убедительные доказательства эффективности ЭМС были получены при анализе данных тензодинамометрии. В тесте на разгибание туловища через 6 месяцев после операции медианный силовой показатель в группе ЭМС (26,9 кг) был на 74,7% выше, чем в контрольной группе (15,4 кг; $p < 0,001$). Еще более выраженные различия зафиксированы в тесте на сгибание туловища, который целенаправленно оценивает функцию прямых и косых мышц живота. Исходно группа ЭМС имела незначительное, но статистически значимое преимущество (3,8 кг против 4,9 кг; $p = 0,041$), однако к концу наблюдения разрыв

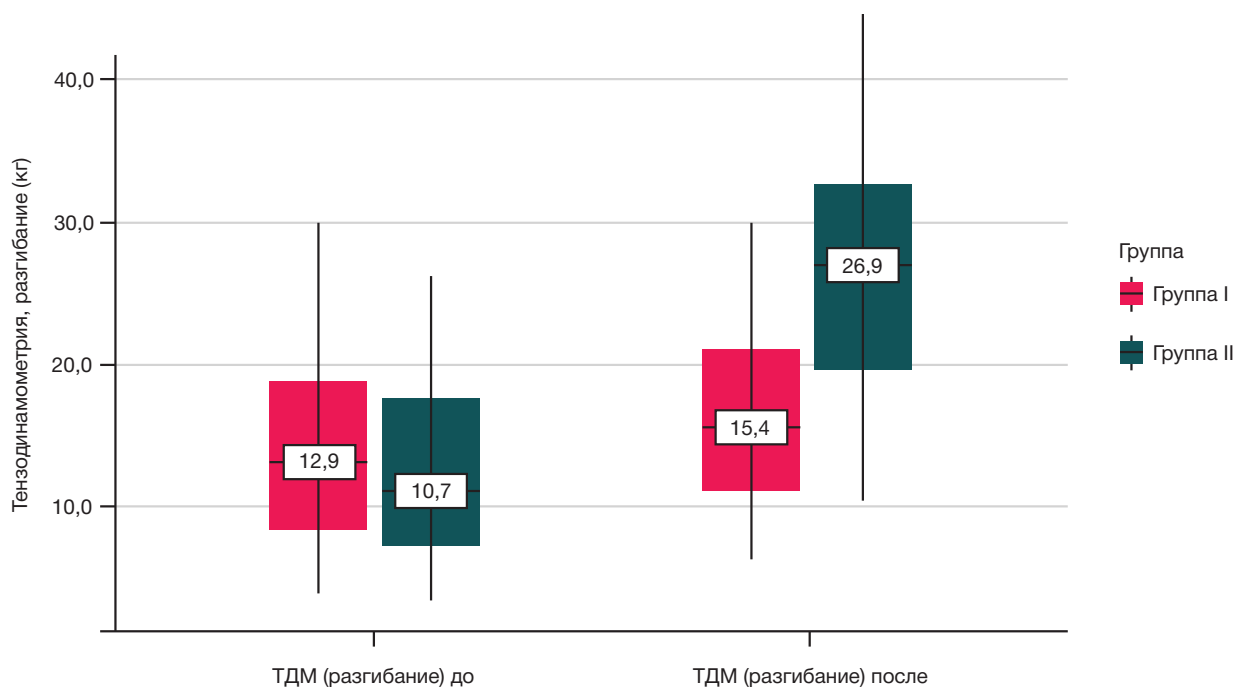


Рис. 2. Динамика силы разгибания туловища по данным тензодинамометрии

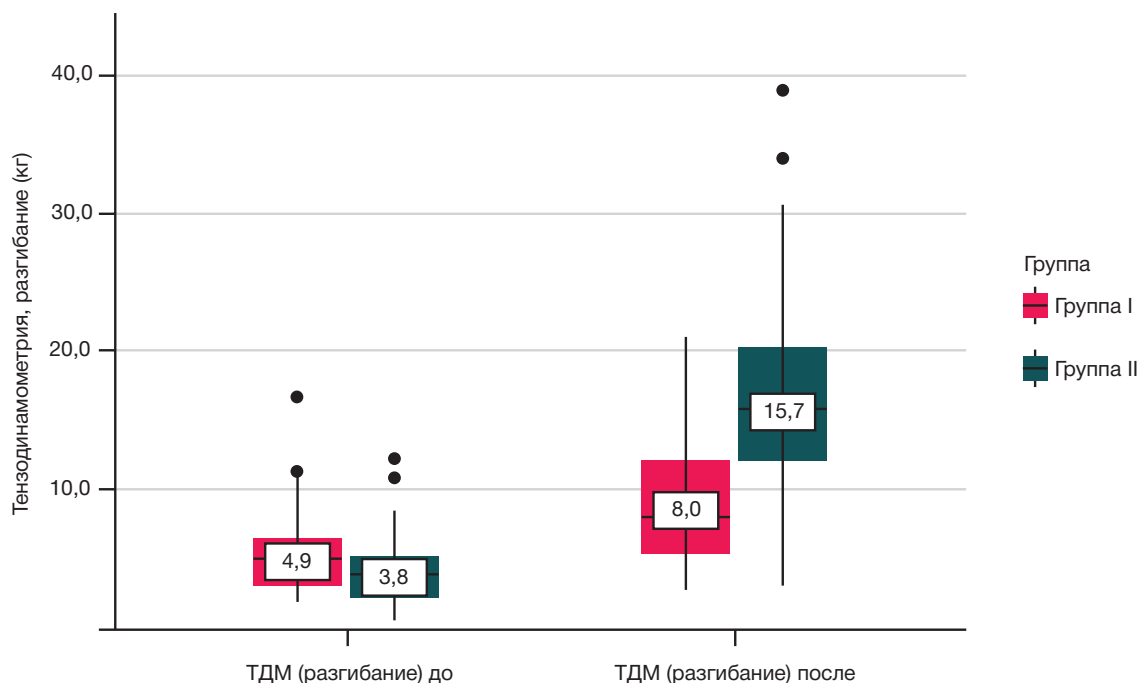


Рис. 3. Динамика силы сгибания туловища по данным тензодинамометрии

между группами кардинально увеличился: медианная сила сгибания в основной группе (15,7 кг) превысила показатель контрольной группы (8,0 кг) в 2 раза. Столь существенный прирост силы именно в тесте на сгибание является прямым следствием применяемой методики, способствовал предотвращению послеоперационной мышечной атрофии и стимулировал нейромышечную адаптацию.

Полученные нами клинические данные согласуются с результатами ранее проведенного экспериментального исследования на модели минисвиней, в котором были показаны безопасность и эффективность ЭМС мышц передней брюшной стенки после герниопластики retro-rectus [7]. В эксперименте было установлено, что начало ЭМС с 30-х суток после операции приводит к улучшению капилляризации мышечной ткани и более полноценному формированию соединительнотканной капсулы вокруг сетчатого импланта. Эти данные послужили обоснованием для выбора сроков начала курса ЭМС в настоящем клиническом исследовании (с 10-х суток), а также позволяют объяснить выраженный прирост силы мышц и физической активности у пациентов основной группы к 3-му и 6-му месяцам после операции.

В отечественной литературе также подчеркивается важность комплексной физической реабилитации после герниопластики. Так, раннее применение лечебной физкультуры и физиотерапевтических методик способствует снижению частоты послеоперационных осложнений, ускорению восстановления функционального состояния мышц передней брюшной стенки и профилактике рецидивов [9]. В более ранней работе рекомендовано начинать электромиостимуляцию через месяц после операции курсами по 10–15 процедур, при этом отмечено положительное влияние на микроциркуляцию и трофику мышечной ткани без повышения внутрибрюшного давления [10]. Наш протокол, предусматривающий начало ЭМС с 10-х суток, был разработан с учетом этих рекомендаций и собственных экспериментальных данных, что позволило достичь более быстрого и выраженного прироста силы мышц и физической активности.

Современные исследования подтверждают эффективность физиотерапевтических методов в коррекции послеоперационных мышечно-тонических нарушений. Так, применение комплексной физиотерапии (включающей ЛФК, магнитотерапию, чрескожную электронейростимуляцию и постизометрическую релаксацию) у пациентов после абдоминальных и торакальных вмешательств позволило снизить патологический мышечный тонус на 56,3% и увеличить объем движений на 58,7% по сравнению со стандартным медикаментозным лечением [11]. Хотя в нашем исследовании использовали целенаправленную ЭМС мышц передней брюшной стенки, полученные результаты также демонстрируют значимое улучшение силовых показателей и физической активности, что согласуется с общим принципом положительного влияния физиотерапии на функциональное восстановление после операций на органах брюшной полости.

Объективная оценка функционального состояния мышц брюшной стенки возможна с помощью различных инструментальных методов, среди которых наиболее информативной считается электромиография. В клинической практике ЭМГ до сих пор остается скорее экспериментально-диагностическим методом и не входит в перечень обязательных исследований при подготовке пациента к герниопластике [12]. В нашем исследовании для оценки силы мышц была использована тензодинамометрия — метод, позволяющий количественно измерить максимальное изометрическое усилие, что в сочетании с шагометрией дает комплексную картину восстановления функции брюшного пресса и физической активности пациента. Кроме того, в упомянутом обзоре приводятся данные о положительном влиянии электромиостимуляции на восстановление электрической активности мышц в послеоперационном периоде, что согласуется с полученными нами результатами о более быстром и выраженном приросте силы мышц и физической активности в группе ЭМС.

Исходя из сказанного выше, курс электромиостимуляции, начатый с 10-х послеоперационных суток, продемонстрировал

выраженный реабилитационный потенциал, достоверно улучшив ключевые функциональные исходы у пациентов, перенесших ретромулярную герниопластику. Полученные результаты согласуются с данными как экспериментальных, так и клинических исследований, подтверждающих эффективность физиотерапевтических методов в послеоперационной реабилитации абдоминальных больных. Дальнейшие исследования должны быть направлены на оптимизацию протоколов ЭМС, оценку долгосрочных исходов и качества жизни пациентов, а также на изучение комбинации ЭМС с другими реабилитационными методиками.

ВЫВОДЫ

Электростимуляция мышц передней брюшной стенки, начатая с 10-х суток после сепарационной герниопластики, обеспечивает достоверное улучшение силовых показателей (прирост на 74,7–96,3%) и ускоренное восстановление физической активности пациентов. Данный метод является эффективным и физиологически обоснованным компонентом комплексной послеоперационной реабилитации при хирургическом лечении вентральных грыж. Необходимы дальнейшие исследования для подтверждения влияния ЭМС на дальнейшие функциональные исходы и риск рецидивов.

Литература

1. Serafio-Gómez JL, Aragón-Quintana C, Bustillos-Ponce M, Varela-Barraza O, Silva B. Effective Management of Giant Ventral Hernias: A Comprehensive Approach Combining Preoperative Botulinum Toxin Application, Modified Ramírez's Component Separation, and Rives-Stoppa Hernioplasty. *Cureus*. 2023; 15 (11): e48967. DOI: 10.7759/cureus.48967.
2. Daes J, Oma E, Jorgensen LN. Changes in the abdominal wall after anterior, posterior, and combined component separation. *Hernia*. 2022; 26 (1): 17–27. DOI: 10.1007/s10029-021-02535-0.
3. Pochhammer J, Ibaldo C, Weller MP, Schäffer M. Retromuscular, periprosthetic drainage after hernioplasty with sublay mesh reinforcement in ventral hernias results in less retromuscular fluid collections but longer hospital stay and analgetic use with unclear effect on clinical outcome — a randomized controlled trial. *Langenbecks Arch Surg*. 2024; 409 (1): 334. DOI: 10.1007/s00423-024-03522-6.
4. Ciomperlik H, Dhanani NH, Cassata N, Mohr C, Bernardi K, et al. Patient quality of life before and after ventral hernia repair. *Surgery*. 2021; 169 (5): 1158–63. DOI: 10.1016/j.surg.2020.11.003.
5. Da Mota Moreira I, Krause A, Memmert D. Effects of electromyostimulation on physiological determinants of endurance-performance in healthy subjects: a systematic review. *J Sports Med Phys Fitness*. 2022; 62 (12): 1654–61. DOI: 10.23736/S0022-4707.22.13428-6.
6. Ricci PA, Di Thommazo-Luporini L, Santos-de-Araújo AD, Jürgensen SP, André LD, et al. Combining Whole-Body Electromyostimulation and Dynamic Exercise After Bariatric Surgery: A Randomized, Double-Blind, and Sham-Controlled Trial. *Obes Surg*. 2025. DOI: 10.1007/s11695-025-08107-w.
7. Demin NA, Achkasov EE, Karkischenko VN, Abdurashidova MR, Shishkin AA. Possibilities of physical rehabilitation using

- myostimulation after ventral hernia repair retro-rectus. *Clinical and Experimental Surgery. Petrovsky Journal*. 2022; 10 (3): 114–24. DOI: 10.33029/2308-1198-2022-10-3-114-124.
8. Moreau D, Dubots P, Boggio V, Guillard JC, Cometti G. Effects of electromyostimulation and strength training on muscle soreness, muscle damage and sympathetic activation. *J Sports Sci*. 1995; 13 (2): 95–100. DOI: 10.1080/02640419508732216.
9. Петрушко С. И., Портнягин Е. В., Мичуров Е. И., Репина Е. В., Сагыналиев А. С., Рожина А. В. Реабилитация больных после герниопластики в раннем послеоперационном периоде. Трудный пациент. 2020; 18 (3): 47–49. DOI: 10.24411/2074-1995-2020-10020.
10. Кашурникова М. А., Шлыков О. А., Полукова Г. В. Физическая реабилитация больных после герниопластики при вентральных грыжах. В сб.: Медико-биологические и педагогические основы адаптации, спортивной деятельности и здорового образа жизни: сборник научных статей IV Всероссийской заочной научно-практической конференции с международным участием (Воронеж, 29 апреля 2015 г.). Воронеж: Научная книга, 2015; с. 52–57. EDN: TYAPZL.
11. Диёрва М. К., Кадиров Дж. Ф. Роль физиотерапевтических процедур в коррекции мышечно-тонических нарушений в послеоперационном периоде. *HealthWay: Ilmiy-amaliy tibbiyot jurnali*. 2026; 2 (1): 117–26. Доступно по ссылке: <https://healthway.uz/index.php/hw/article/view/290> (дата обращения: 21.04.2026).
12. Райлян Р. И., Ботезату А. А. Электромиография и ее роль в исследовании функций мышц живота у больных с грыжами передней брюшной стенки (обзор литературы). *Вестник Приднестровского университета. Серия: Медико-биологические и химические науки*. 2015; 2 (50): 52–61. EDN: XQXCLJ.

References

1. Serafio-Gómez JL, Aragón-Quintana C, Bustillos-Ponce M, Varela-Barraza O, Silva B. Effective Management of Giant Ventral Hernias: A Comprehensive Approach Combining Preoperative Botulinum Toxin Application, Modified Ramírez's Component Separation, and Rives-Stoppa Hernioplasty. *Cureus*. 2023; 15 (11): e48967. DOI: 10.7759/cureus.48967.
2. Daes J, Oma E, Jorgensen LN. Changes in the abdominal wall after anterior, posterior, and combined component separation. *Hernia*. 2022; 26 (1): 17–27. DOI: 10.1007/s10029-021-02535-0.
3. Pochhammer J, Ibaldo C, Weller MP, Schäffer M. Retromuscular, periprosthetic drainage after hernioplasty with sublay mesh reinforcement in ventral hernias results in less retromuscular fluid collections but longer hospital stay and analgetic use with unclear effect on clinical outcome — a randomized controlled trial. *Langenbecks Arch Surg*. 2024; 409 (1): 334. DOI: 10.1007/s00423-024-03522-6.
4. Ciomperlik H, Dhanani NH, Cassata N, Mohr C, Bernardi K, et al. Patient quality of life before and after ventral hernia repair. *Surgery*. 2021; 169 (5): 1158–63. DOI: 10.1016/j.surg.2020.11.003.
5. Da Mota Moreira I, Krause A, Memmert D. Effects of

- electromyostimulation on physiological determinants of endurance-performance in healthy subjects: a systematic review. *J Sports Med Phys Fitness*. 2022; 62 (12): 1654–61. DOI: 10.23736/S0022-4707.22.13428-6.
6. Ricci PA, Di Thommazo-Luporini L, Santos-de-Araújo AD, Jürgensen SP, André LD, et al. Combining Whole-Body Electromyostimulation and Dynamic Exercise After Bariatric Surgery: A Randomized, Double-Blind, and Sham-Controlled Trial. *Obes Surg*. 2025. DOI: 10.1007/s11695-025-08107-w.
7. Demin NA, Achkasov EE, Karkischenko VN, Abdurashidova MR, Shishkin AA. Possibilities of physical rehabilitation using myostimulation after ventral hernia repair retro-rectus. *Clinical and Experimental Surgery. Petrovsky Journal*. 2022; 10 (3): 114–24. DOI: 10.33029/2308-1198-2022-10-3-114-124.
8. Moreau D, Dubots P, Boggio V, Guillard JC, Cometti G. Effects of electromyostimulation and strength training on muscle soreness, muscle damage and sympathetic activation. *J Sports Sci*. 1995; 13 (2): 95–100. DOI: 10.1080/02640419508732216.
9. Petrushko SI, Portnyagin EV, Michurov EI, Repina EV, Sagynaliyev AS,

- Rozhina AV. Reabilitaciya bol'nyh posle gernioplastiki v rannem posleoperacionnom periode. *Trudnyj pacient*. 2020; 18 (3): 47–49. DOI: 10.24411/2074-1995-2020-10020. Russian.
10. Kashurnikova MA, Shlykov OA, Polubkova GV. Fizicheskaya reabilitaciya bol'nyh posle gernioplastiki pri ventral'nyh gryzhah. V sb.: Mediko-biologicheskie i pedagogicheskie osnovy adaptacii, sportivnoj deyatel'nosti i zdorovogo obraza zhizni: sbornik nauchnyh statej IV Vserossijskoj zaochnoj nauchno-prakticheskoy konferencii s mezhdunarodnym uchastiem (Voronezh, 29 aprelya 2015 g.). Voronezh: Nauchnaya kniga, 2015; s. 52–57. EDN: TYAPZL.
 11. Diyorova MK, Kadirov Dzh F. Rol' fizioterapevticheskix procedur v korrekcii myshechno-tonicheskix narushenij v posleoperacionnom periode. *HealthWay: Ilmiy-amaliy tibbiyot jurnali*. 2026; 2 (1): 117–26. Dostupno po ssylke: <https://healthway.uz/index.php/hw/article/view/290> (data obrashcheniya: 21.04.2026). Russian.
 12. Rajlyanu RI, Botezatu AA. Elektromiografiya i ee rol' v issledovanii funkcij myshc zhivota u bol'nyh s gryzhami perednej bryushnoj stenki (obzor literatury). *Vestnik Pridnestrovskogo universiteta*. Seriya: Mediko-biologicheskie i himicheskie nauki. 2015; 2 (50): 52–61. EDN: XQXCLJ. Russian.

ДИКЛОФЕНАК НАТРИЯ ВЛИЯЕТ НА КЛЕТЧНОСТЬ КОСТНОГО МОЗГА, ПУЛ LSK-КЛЕТОК И ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ У МЫШЕЙ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ДЕРМАТИТОМ

Д. В. Бондоренко^{1,3}, А. С. Иванов^{1,2,3}✉, Т. П. Тананакина³, С. А. Кашченко³, И. А. Погорелова³, И. А. Александров¹

¹ Клиника «МЕДСИ», Клиническая больница № 1, Москва, Россия

² Научно-диагностический центр «Поликлиника на Смоленской», Москва, Россия

³ ФГБОУ ВО ЛГМУ имени Свт. Луки, Россия

В клинической практике широкое применение имеют нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), одним из которых является диклофенак натрия. Целью исследования было оценить влияние диклофенака натрия на клеточность костного мозга, популяцию гемопоэтических стволовых и прогениторных клеток (Lin- Sca-1+ c-Kit+, LSK), а также уровни фактора некроза опухоли (TNF α) и интерлейкина-1 β (IL1 β) у лабораторных мышей с экспериментальным дерматитом в ходе рандомизированного контролируемого исследования на протяжении 96 ч. Самцов мышей линии BALB/c ($n = 6$, 46 недель, 18–25 г) рандомизировали на пять групп: интактная, дерматит без лечения, дерматит + диклофенак 1,5 мг/кг, дерматит + диклофенак 3 мг/кг, диклофенак 3 мг/кг без дерматита. Препарат вводили внутримышечно 2 раза в сутки в течение 96 ч. Дерматит моделировали с использованием додецилсульфата натрия и аллергена *Dermatophagoides farinae*. Через 96 ч проводили забор костного мозга. Общее количество клеток определяли автоматическим счетчиком, популяцию LSK-клеток — методом проточной цитометрии, концентрации цитокинов — методом ELISA. Статистический анализ выполняли с использованием ANOVA ($p < 0,05$). Установлено снижение клеточности костного мозга при дерматите ($0,95 \pm 0,12$ против $1,20 \pm 0,15 \times 10^6/\text{мл}$; $p < 0,05$). Применение диклофенака 1,5 мг/кг сопровождалось умеренным снижением клеточности ($0,80 \pm 0,10 \times 10^6/\text{мл}$) и увеличением доли LSK-клеток ($3,8 \pm 0,5\%$ против $2,1 \pm 0,3\%$; $p < 0,05$). Доза 3 мг/кг вызвала выраженное снижение клеточности ($0,60 \pm 0,08 \times 10^6/\text{мл}$) и LSK-клеток ($1,4 \pm 0,3\%$; $p < 0,01$), а также повышение IL1 β ($15,5 \pm 1,2$ пг/мл) и TNF α ($82,1 \pm 4,5$ пг/мл). Полученные данные свидетельствуют о дозозависимом влиянии диклофенака натрия на гемопоэз и воспалительный ответ.

Ключевые слова: костный мозг, диклофенак натрия, клеточность, недифференцированные клетки, фактор некроза опухолей α , интерлейкин-1, воспаление
Благодарности: авторы выражают искреннюю благодарность С. Граматюк и М. Ноэбауэр (JAB Global) за методологическое сопровождение и значимый вклад в разработку, планирование и концептуализацию экспериментального исследования.

Вклад авторов: Д. В. Бондоренко, А. С. Иванов — дизайн исследования, проведение экспериментальной части работы; Т. П. Тананакина — дизайн исследования, проведение экспериментальной части работы, научное сопровождение; С. А. Кашченко — научное редактирование текста, научное сопровождение, подготовка эксперимента; И. А. Погорелова — редактирование текста, подготовка эксперимента, консультации по содержанию животноводных, расчеты доз препаратов; И. А. Александров — уход за животными, проведение экспериментальной части работы.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО ЛГМУ имени Свт. Луки (протокол № 1 от 27 января 2026 г.), проведено в соответствии с Рекомендациями Коллегии ЕЭК «Руководство по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований от 14.11.2023 № 33», с соблюдением принципов Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях, а также в соответствии с директивой Европейского парламента и совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях.

✉ **Для корреспонденции:** Алексей Сергеевич Иванов

ул. А. Дикого, д. 16А, кв. 73, 111396, г. Москва; sashatravmatolog1985@mail.ru

Статья получена: 15.05.2026 **Статья принята к печати:** 18.06.2026 **Опубликована онлайн:** 30.06.2026

DOI: 10.24075/vrgmu.2026.038

Авторские права: © 2026 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/>).

THE EFFECT OF DICLOFENAC SODIUM ON BONE MARROW CELLULARITY, THE LSK CELL POOL, AND CYTOKINE PROFILES IN MICE WITH EXPERIMENTAL DERMATITIS

Bondorenko DV^{1,3}, Ivanov AS^{1,2,3}✉, Tananakina TP³, Kashchenko SA³, Pogorelova IA³, Alexandrov IA¹

¹ MEDSI Clinic, Clinical Hospital No. 1, Moscow, Russia

² Polyclinic on Smolenskaya Scientific and Diagnostic Center, Moscow, Russia

³ Saint Luka LSMU, Russia

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), one of which is diclofenac sodium, are widely used in clinical practice. This study aimed to assess the effect of diclofenac sodium on bone marrow cellularity, the population of hematopoietic stem and progenitor cells (Lin-Sca-1+ c-Kit+, LSK), as well as the levels of tumor necrosis factor — (TNF α) and interleukin-1b (IL1b) in laboratory mice with experimental dermatitis. The study was a randomized controlled trial; the experimental phase lasted 96 hours. Male BALB/c mice ($n = 6$, age 46 weeks, 18–25 g) were randomized into five groups: intact, untreated dermatitis, dermatitis + diclofenac 1.5 mg/kg, dermatitis + diclofenac 3 mg/kg, diclofenac 3 mg/kg without dermatitis. The drug was administered intramuscularly 2 times a day for 96 hours. Dermatitis was modeled using sodium dodecyl sulfate and *Dermatophagoides farinae*. Bone marrow was collected after 96 hours. The total number of cells was determined by an automatic counter, the LSK cell population by flow cytometry, and cytokine concentrations by ELISA. Statistical analysis was performed using ANOVA ($p < 0.05$). We observed a decrease in bone marrow cellularity in dermatitis groups (0.95 ± 0.12 versus $1.20 \pm 0.15 \times 10^6/\text{ml}$; $p < 0.05$). Diclofenac 1.5 mg/kg decreased cellularity moderately ($0.80 \pm 0.10 \times 10^6/\text{ml}$) and an increased LSK cells ($3.8 \pm 0.5\%$ vs. $2.1 \pm 0.3\%$; $p < 0.05$). Diclofenac 3 mg/kg markedly brought down cellularity ($0.60 \pm 0.08 \times 10^6/\text{ml}$) and LSK cells ($1.4 \pm 0.3\%$; $p < 0.01$), and brought up IL1b (15.5 ± 1.2 pg/ml) and TNF α (82.1 ± 4.5 pg/ml). Our findings indicate a dose-dependent effect of diclofenac sodium on hematopoiesis and inflammatory response.

Keywords: bone marrow, diclofenac sodium, cellularity, undifferentiated cells, tumor necrosis factor α , interleukin-1, inflammation

Acknowledgements: the authors express their sincere gratitude to S. Gramatyuk and M. Noebauer (JAB Global) for methodological support and significant contribution to the design, planning, and conceptualization of this experimental research.

Author contribution: Bondorenko DV, Ivanov AS — study design, experimental part of the work; Tananakina TP — study design, experimental part of the work, scientific support; Kashchenko SA — scientific text editing, scientific support, experiment preparation; Pogorelova IA — text editing, experiment preparation, animal care consultations, drug dose calculations; Alexandrov IA — animal care, experimental part of the work.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of St. Luka LSMU (Minutes No. 1 of January 27, 2026), conducted in accordance with the Recommendations of the Board of the Eurasian Economic Commission of November 14, 2023 No. 33 "Guidelines for working with laboratory (experimental) animals during preclinical (non-clinical) studies," in compliance with the principles of the European Convention for the Protection of Vertebrates used for Experimental and Other Scientific Purposes, as well as in accordance with the Directive of the European Parliament and the Council of the European Union on the protection of animals used for scientific purposes.

✉ **Correspondence should be addressed:** Alexey S. Ivanov

A. Dikogo, 16A, kv. 73, 111396, Moscow; sashatravmatolog1985@mail.ru

Received: 15.05.2026 **Accepted:** 18.06.2026 **Published online:** 30.06.2026

DOI: 10.24075/brsmu.2026.038

Copyright: © 2026 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/>).

Постоянный поиск нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП) с минимальным токсичным действием на клетки, находящиеся в процессе постоянного деления, имеет важное значение, особенно это касается костного мозга [1]. При длительном применении НПВП возможны стимуляция иммунной системы и изменение концентрации цитокинов в крови, многие из которых являются факторами или катализаторами дифференцировки клеток костного мозга [2].

Показанием к назначению НПВП является не только воспаление. Достаточно широкое распространение они получили в качестве анальгетиков за свою способность эффективно купировать болевой синдром в послеоперационном периоде, что впоследствии сказывается на частоте и количестве применения опиоидных обезболивающих [1, 3]. Длительное и бесконтрольное применение НПВП отрицательно влияет не только на состояние желудочно-кишечного тракта, печени, почек, но и костного мозга, клетки которого находятся в состоянии постоянного деления. Наиболее ярким представителем группы НПВП является диклофенак натрия, который обладает выраженным противовоспалительным эффектом и наиболее часто применяется врачами в клинической практике для лечения патологий воспалительного характера (например, ревматоидного артрита, артроза суставов, анкилозирующего спондилоартрита, гинекологической, неврологической патологии, а также в качестве анальгетика после травм) [2, 4, 5].

Гистологически состояние костного мозга после длительного применения диклофенака натрия оценивают как неблагоприятное, происходит уменьшение количества гемопоэтических клеток, в результате чего развивается панцитопения, анемия, повышается риск инфекций [6, 7]. Биотрансформация диклофенака натрия происходит преимущественно в гепатоцитах, выведение осуществляется на 60–65% с мочой и 30–35% с желчью через желудочно-кишечный тракт [8, 9]. В костном мозге под действием диклофенака натрия наблюдается нейтропения, агранулоцитоз, снижение количества эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, происходит изменение количественных показателей цитокинов [10]. Последние представляют собой небольшого размера белки, основная задача которых состоит в передаче сигнала между клетками посредством специфических рецепторов. Механизм передачи сигнала у цитокинов происходит таким же путем, как и у некоторых белковых гормонов. Отличие состоит в том, что вырабатываются цитокины многими клетками организма, а не какими-то конкретными, в отличие от гормонов, и действуют на расстоянии или локально — паракринно или аутокринно [11, 12]. Принято разделять цитокины на провоспалительные (интерлейкин-1 (IL1 β) и фактор некроза опухолей (TNF α)) и противовоспалительные. Синтез IL1 β осуществляют миелоидные клетки как ответ на действие паттернов, ассоциированных с патогенами или повреждением. Влияние IL1 β на организм связано с индукцией синтеза других цитокинов, отвечающих за воспаление, в частности TNF α и IL6 (отвечает за дифференцировку клеток костного мозга), под его влиянием происходит стимуляция клеток предшественников мегакариоцитарного роста, пре-B-лимфоцитов [13].

TNF α получил свое название за способность приводить некоторые опухолевые клетки к геморрагическому некрозу, что давало надежду на излечение от онкологии. Дальнейшими исследованиями было установлено, что TNF α способствует прогрессированию новообразований и их

метастазированию [14]. Выработка TNF α осуществляется иммунными клетками, в основном моноцитами и макрофагами, под его влиянием происходят пролиферация и дифференцировка нейтрофилов и макрофагов, их ускоренный выход в кровотоки. При воспалении или стрессе цитокин приводит к угнетению образования эритроцитов и лимфоцитов, повышается выработка миелоидных клеток [15]. При непосредственном участии TNF α происходит повышение концентрации IL1 и других цитокинов, при проникновении инфекции в организм он приводит лейкоциты в активное состояние [16]. В зависимости от внутреннего состояния организма TNF α обладает провоспалительными и противовоспалительными свойствами и играет ведущую роль в цитокиновом шторме при COVID-19 [17–21]. Важное значение цитокины играют в патогенезе воспалительных заболеваний (ревматоидного артрита, анкилозирующего спондилоартрита и др.), при которых широко применяют НПВП на протяжении длительного времени [22, 23].

Несмотря на то что атопический дерматит манифестирует преимущественно локальными поражениями кожи, современные концепции рассматривают его как системную патологию, протекающую с вовлечением центральных органов иммуноопоза. Избыточная продукция периферических медиаторов воспаления способна дистанционно модулировать функциональное состояние костного мозга. В частности, хронический воспалительный сигнал приводит к гиперстимуляции пула наиболее ранних гемопоэтических стволовых клеток и предшественников — LSK-клеток (Lin–Scam–c-Kit–), сдвигая их дифференцировку в сторону миелопоэза и усугубляя системный цитокиновый дисбаланс (включая гиперпродукцию IL1 β и TNF α).

Представляет особый интерес изучение эффектов диклофенака натрия в данной модели. Являясь неселективным ингибитором циклооксигеназы (ЦОГ-1 и ЦОГ-2), диклофенак блокирует синтез простагландинов, которые признаны важными регуляторами как барьерных свойств кожи, так и костномозгового микроокружения. Применение диклофенака натрия в настоящем исследовании рассматривается нами как патогенетический инструмент, позволяющий определить вклад ЦОГ-зависимых механизмов в реализацию системного ответа костного мозга (его клеточности и пула LSK-клеток) при кожной патологии.

Целью исследования было оценить влияние диклофенака натрия в дозе 1,5 и 3 мг/кг на клеточность костного мозга, процентное соотношение недифференцированных бластов и концентрацию провоспалительных цитокинов (IL1 β и TNF α) у мышей с экспериментальным дерматитом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальная часть работы была выполнена на базе ФГБОУ ВО ЛГМУ имени Свт. Луки Минздрава России в соответствии с требованиями Рекомендации Коллегии Евразийской экономической комиссии «Руководство по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований от 14.11.2023 № 33», а также с соблюдением принципов Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в научных целях [24, 25].

Экспериментальная модель

Для проведения исследования были отобраны 64 самца мышей линии BALB/c возрастом 6 недель, массой 18–25 г.

Животных содержали в стандартных условиях вивария при температуре 22 ± 2 °C, относительной влажности 50–60% и 12-часовом световом цикле, с неограниченным доступом к пище и воде.

Распределение животных по группам осуществляли методом простой рандомизации с использованием генератора случайных чисел. Оценку морфологических и биохимических показателей проводил исследователь, не осведомленный о принадлежности животных к экспериментальным группам (слепой анализ, blinded assessment). Случайным образом животные были разделены на пять экспериментальных групп: первая — контроль ($n = 12$), (животные не подвергались моделированию дерматита и не получали действующее вещество); во второй ($n = 10$) был смоделирован экспериментальный дерматит, животные не получали действующее вещество; в третьей ($n = 16$) на фоне дерматита получали диклофенак натрия в дозе 1,5 мг/кг; в четвертой ($n = 16$) на фоне дерматита получали диклофенак натрия в дозе 3 мг/кг; в пятой группе ($n = 10$) вводили диклофенак натрия в дозе 3 мг/кг с целью оценки прямого токсического действия действующего вещества на костный мозг.

Подбор доз проводили из расчета менее выраженного миелосупрессивного действия, оказываемого диклофенаком натрия (Solopharm, Россия) в дозе 1,5 мг/кг и компенсаторной реакцией бластных клеток в сравнении с высокой дозой 3 мг/кг [1, 2, 4, 5]. Действующее вещество вводили внутримышечно в область четырехглавой мышцы бедра 2 раза в сутки с интервалом 12 ч (8.00 и 20.00) в течение 96 ч. Выбор дозировок был обусловлен также необходимостью сравнения умеренного и выраженного фармакологического эффекта, и оценки дозозависимости. Контрольная группа получала физиологический раствор натрия хлорида в эквивалентном объеме.

В качестве воспалительного процесса был выбран экспериментальный контактный дерматит, как быстро воспроизводимая валидированная модель локального иммуновоспалительного ответа, сопровождающегося изменением цитокинового профиля. Дерматит моделировали на дорсальной поверхности кожи после эпиляции волосяного покрова. Индукцию первичного повреждения кожного барьера проводили путем нанесения 10% раствора додецилсульфата натрия («ЭкоТек», Россия), который обеспечивал разрушение липидного слоя рогового эпидермиса и повышение проницаемости кожи. Первичную воспалительную реакцию оценивали в первые 24–48 ч после нанесения. Для поддержания и хронизации воспалительного процесса использовали аллерген *Dermatophagoides farinae* Biostir-AD (Biostir Inc., Япония) в виде косметической мази на основе клеща домашней пыли, который наносили в дозе 100 мг, на участки поврежденной кожи 2–3 раза в неделю на протяжении 7–14 дней. Оценочными критериями формирования дерматита служили признаки воспалительного процесса — гиперемия, отек, локальное повышение температуры, шелушение и зуд, которые регистрировали на 7–10 сутки эксперимента.

По завершении экспериментального периода животных подвергали эвтаназии под общей анестезией с использованием ингаляционного изофлурана в смеси с кислородом. Выбор данного анестетика был обусловлен его минимальным влиянием на показатели цитокинового профиля по сравнению с инъекционными средствами. После достижения адекватной глубины анестезии проводили декапитацию с последующим асептическим

извлечением бедренных костей. Костный мозг выделяли путем механического разрушения кости с последующим получением суспензии клеток. В полученном материале определяли общее количество клеток в 1 мл, концентрацию недифференцированных клеток, концентрацию провоспалительных цитокинов — интерлейкина-1 β (IL1 β) и фактора некроза опухолей α (TNF α).

Продолжительность введения препарата была ограничена 96 ч в связи с наблюдаемым увеличением летальности животных при более длительном воздействии, что учитывалось как ограничение модели и соответствовало этическим требованиям минимизации страдания экспериментальных животных.

Для количественной оценки популяции недифференцированных клеток костного мозга использовали метод проточной цитометрии. Клетки окрашивали с использованием панели моноклональных антител к маркерам Lin⁻ Sca-1+ c-Kit+ (LSK), позволяющим идентифицировать гемопоэтические стволовые и прогениторные клетки. Анализ проводили на проточном цитофлуориметре BD FACSCanto II (BD Biosciences, США). Результаты выражали в процентах от общего числа ядросодержащих клеток [26–27].

Иммуномагнитная сепарация клеток

Для дополнительного обогащения популяции клеток-предшественников применяли метод иммуномагнитной сепарации с использованием коммерческих наборов (Miltenyi Biotec, Германия). Полученную фракцию использовали для повышения точности последующего анализа клеточных характеристик. Следует отметить, что иммуномагнитную сепарацию применяли как вспомогательный метод и не использовали в качестве основного способа количественной оценки популяции недифференцированных клеток [28–30].

Определение концентрации цитокинов

Концентрации интерлейкина-1 β (IL1 β) и фактора некроза опухолей- α (TNF α) в гомогенате костного мозга определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) с использованием коммерческих наборов (R&D Systems, США). В работе использовали коммерческие видоспецифичные тест-системы серии Quantikine ELISA Kits (R&D Systems, США): набор Mouse IL1 beta/IL1F2 (Cat. No. MLB00C) и набор Mouse TNFalpha (Cat. No. MTA00B) в соответствии с инструкциями производителя. Чувствительность метода составляла менее 5 пг/мл. Измерения проводили в дубликатах с построением калибровочных кривых. Результаты выражали в пг/мл.

Статистический анализ

Статистический анализ проводили с использованием GraphPad Prism 9. Проверку нормальности распределения выполняли с помощью теста Шапиро–Уилка. Для сравнения более двух групп применяли однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с пост-хок-тестом Тьюки. При ненормальном распределении использовали критерий Краскела–Уоллиса с тестом Данна. Данные представлены как $M \pm SD$. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Дополнительно рассчитывали 95%-е доверительные интервалы и effect size (η^2). Статистическую обработку

Таблица 1. Показатели клеточности костного мозга и популяции недифференцированных клеток (LSK) у экспериментальных животных различных групп (M ± SD)

Группа	n	Общее количество клеток в 1 мл гомогената костного мозга	Недифференцированные клетки / LSK (%)
I группа (интактная)	12	1,1 ± 0,1 × 10 ⁶	2,0 ± 0,2
II группа (дерматит)	10	0,95 ± 0,12 × 10 ^{6*}	2,3 ± 0,4
III группа (дерматит + 1,5 мг/кг диклофенака натрия)	16	0,4 ± 0,1 × 10 ^{6*#}	5,1 ± 0,2*#
IV группа (дерматит + 3,0 мг/кг диклофенака натрия)	16	1,0 ± 0,3 × 10 ^{5*#†}	0,8 ± 0,2*#†
V группа (3,0 мг/кг диклофенака натрия)	10	0,7 ± 0,09 × 10 ^{6*#}	1,6 ± 0,4*#

Примечание: * — $p < 0,05$ по сравнению с интактной группой; # — $p < 0,05$ по сравнению с группой дерматита без лечения; † — $p < 0,05$ по сравнению с группой диклофенака натрия 1,5 мг/кг. Для группы животных, получавших диклофенак натрия в дозе 3 мг/кг, показатель клеточности был существенно ниже, в связи с чем результаты представлены в размерности × 10⁵ кл./мл.

результатов, полученных в ходе эксперимента, построение графиков и диаграмм выполняли с использованием программы Statistica 10 (StatSoft Inc., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе проведенного исследования было выявлено дозозависимое влияние диклофенака натрия на клеточность костного мозга, популяцию недифференцированных клеток (Lin⁻ Sca-1+ c-Kit+, LSK) и концентрации провоспалительных цитокинов.

В группе животных с дерматитом без лечения выявлено статистически значимое снижение общего количества клеток костного мозга по сравнению с интактной группой ($p < 0,05$), что отражает угнетение гемопоэза на фоне системного воспалительного процесса.

Введение диклофенака натрия сопровождалось дальнейшим снижением клеточности. При применении дозы 1,5 мг/кг уменьшение показателя носило умеренный характер ($p < 0,05$ по сравнению с интактной группой), тогда как в группе на фоне введения 3 мг/кг диклофенака натрия отмечалось более выраженное снижение как относительно интактной группы, так и группы дерматита без лечения ($p < 0,01$), что свидетельствует о дозозависимом миелосупрессивном эффекте препарата. Результаты оценки клеточного состава костного мозга представлены в табл. 1.

Количество недифференцированных клеток в группе с воспалением повышалось в 1,15 раза ($p < 0,05$) в сравнении с контрольной группой. В группе на фоне воспаления с введением 1,5 мг/кг диклофенака натрия рост наблюдался в 2,55 раза ($p < 0,05$) в сравнении с контрольной группой, в 2,21 раза ($p < 0,05$) в сравнении с группой с изолированным воспалением. В группе с

дерматитом и введением 3 мг/кг диклофенака наблюдали снижение недифференцированных клеток на 60% ($p < 0,05$) в сравнении с контрольной группой и на 65,3% ($p < 0,05$) в сравнении с группой дерматита. В группе, где вводили только 3 мг/кг диклофенака натрия, показатель клеточности снизился на 20% ($p < 0,05$) в сравнении с контрольной группой, на 30,5% ($p < 0,05$) в сравнении с группой дерматита, на 68,7% ($p < 0,05$) в сравнении с группой дерматита на фоне введения 1,5 мг/кг, вырос в 2 раза ($p < 0,05$) в сравнении с группой дерматита на фоне введения 3 мг/кг действующего вещества.

При исследовании концентрации цитокинов в группе дерматита наблюдали повышение содержания IL1 β и TNF α . В группе с дерматитом на фоне введения 1,5 мг/кг диклофенака натрия концентрация исследуемых цитокинов также имела четкую тенденцию в сторону повышения в сравнении с показателями контрольной группы. В группе с дерматитом на фоне введения 3 мг/кг действующего вещества рост был более значительным для концентрации IL1 β , что составило максимальное значение, TNF α оставался на относительно высоком уровне. В группе, где вводили только диклофенак в дозе 3 мг/кг, концентрация IL1 β и TNF α по своим значениям приближалась к показателям контрольной группы. Изменения концентраций цитокинов представлены в табл. 2.

Анализ концентрации IL1 β показал повышение его уровня в группе с дерматитом в 1,08 раза ($p < 0,05$) в сравнении с контрольной группой. В группе дерматита на фоне введения 1,5 мг/кг раствора диклофенака натрия наблюдали рост в 1,03 раза ($p < 0,05$) по отношению к контрольной группе и снижение концентрации на 3,7% ($p < 0,05$) в сравнении с группой изолированного дерматита. В группе дерматита на фоне введения 3 мг/кг действующего вещества концентрация цитокина выросла

Таблица 2. Концентрации цитокинов в костном мозге экспериментальных животных (пг/мл, M ± SD)

Группа	n	IL1 β (пг/мл)	TNF α (пг/мл)
I группа (интактная)	12	12,8 ± 0,3	64,6 ± 1,5
II группа (дерматит)	10	13,8 ± 1,0*	68,5 ± 4,2*
III группа (дерматит + 1,5 мг/кг диклофенака натрия)	16	13,3 ± 0,1*#	79,6 ± 0,5*#
IV группа (дерматит + 3,0 мг/кг диклофенака натрия)	16	14,9 ± 0,1*#†	72,8 ± 0,4*#†
V группа (3,0 мг/кг диклофенака натрия)	10	12,8 ± 1,1*#	70,2 ± 3,8*#

Примечание: * — $p < 0,05$ по сравнению с интактной группой; # — $p < 0,05$ по сравнению с группой дерматита без лечения; † — $p < 0,05$ по сравнению с группой диклофенака натрия 1,5 мг/кг.

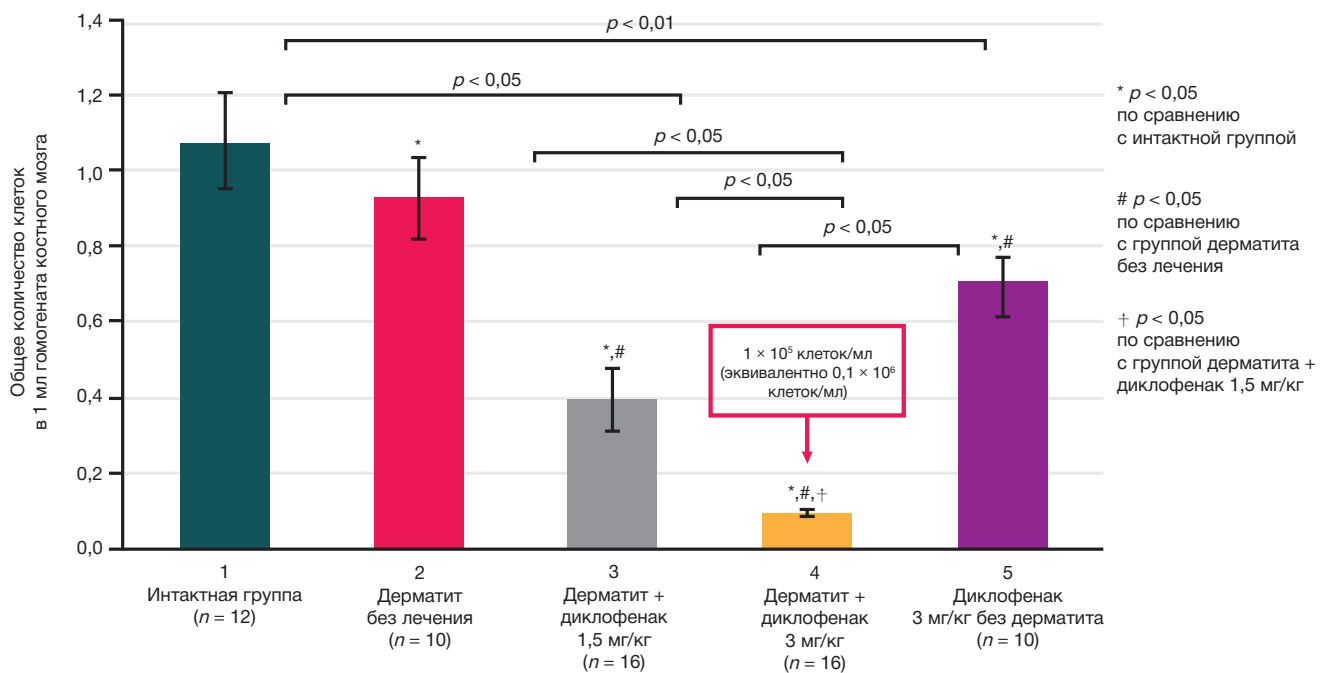


Рис. 1. Динамика изменений общего количества клеток костного мозга ($\times 10^6/\text{мл}$) у экспериментальных животных различных групп на 3 сутки исследования. Для группы животных, получавших диклофенак натрия в дозе 3 мг/кг, абсолютное значение клеточности соответствовало 1×10^6 кл./мл, что эквивалентно $0,1 \times 10^6$ кл./мл на графике. Данные представлены как $M \pm SD$. Статистический анализ выполнен с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с пост-хок-тестом Тьюки. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

максимально, достигая своего пикового значения, в 1,16 раза ($p < 0,05$) в сравнении с контрольной группой и в 1,07 раза ($p < 0,05$) в сравнении с группой дерматита. В группе, получавшей 3 мг/кг действующего вещества, концентрация IL1 β не изменилась по отношению к контрольной группе, снизилась на 7,3% ($p < 0,05$) в сравнении с группой изолированного дерматита, на 3,8% ($p < 0,05$) в сравнении с группой дерматита на фоне введения 1,5 мг/кг диклофенака и на 14,1% ($p < 0,05$) по отношению к группе дерматита на фоне введения 3 мг/кг действующего вещества.

Концентрация TNF α в группе изолированного дерматита выросла в 1,06 раза ($p < 0,05$) по отношению к контрольной группе. В группе дерматита на фоне введения 1,5 мг действующего вещества наблюдали рост в 1,23 раза ($p < 0,05$) в сравнении с контрольной группой на 1,16 раза ($p < 0,05$) в сравнении с группой дерматита. В группе дерматита на фоне введения 3 мг/кг действующего вещества концентрация TNF α выросла в 1,13 раза ($p < 0,05$) по отношению к интактной группе и в 1,06 раза ($p < 0,05$) в сравнении с показателями группы с изолированным дерматитом. В группе, получавшей только 3 мг/кг, наблюдали рост концентрации на 1,09 раза ($p < 0,05$) по отношению к интактной группе и в 1,02 раза ($p < 0,05$) по отношению к группе изолированного дерматита, снижение показателя на 11,9% ($p < 0,05$) по отношению к группе с дерматитом и введением 1,5 мг/кг действующего вещества и на 3,6% ($p < 0,05$) в сравнении с группой с дерматитом на фоне введения 3 мг/кг диклофенака натрия.

Динамику изменения исследуемых показателей костного мозга во всех исследуемых группах возможно представить при помощи графического изображения (рис. 1–2).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Диклофенак натрия оказывает выраженное дозозависимое влияние на гемопоэз и цитокиновый профиль костного

мозга в условиях воспалительного процесса [1, 11]. В ходе проведенного исследования у животных с дерматитом было выявлено снижение общей клеточности костного мозга, что согласуется с данными о супрессивном влиянии системного воспаления на гемопоэз [2]. Анализ популяции LSK-клеток показал, что в группе с изолированным дерматитом их доля существенно не отличалась от интактных значений, но все-таки была выше. Это дает возможность предположить активацию гемопоэза на фоне воспалительного процесса, а также сохранении базового пула стволовых клеток на ранних этапах воспалительного ответа.

В группе с дерматитом на фоне введения диклофенака в дозе 1,5 мг/кг снижается общее количество клеток, что дает представление о некоторой токсичности действующего вещества на отдельные группы клеток [4, 5]. Вместе с тем отмечалось достоверное увеличение доли Lin–Sca-1+ c-Kit+ клеток ($p < 0,05$), что может свидетельствовать о компенсаторной активации гемопоэтических стволовых и прогениторных клеток на фоне попадания диклофенака натрия в организм.

В то же время введение действующего вещества в дозе 3,0 мг/кг на протяжении 96 ч сопровождалось значительным снижением показателя клеток в 1 мл суспензии костного мозга и процентной доли LSK-клеток по сравнению с группой, которая получала 1,5 мг/кг, так и с контрольными группами ($p < 0,01$), что указывает на угнетение пролиферативного потенциала костного мозга. Аналогичная тенденция наблюдалась и в группе животных, получавших диклофенак без моделирования дерматита, что свидетельствует о прямом токсическом воздействии препарата [7, 8].

В группе, получавшей только 3 мг/кг диклофенака, отмечалось снижение клеточности костного мозга, но в сравнении с группой с дерматитом на фоне введения такой же дозы действующего вещества показатель был на более высоком уровне, что дает возможность говорить о токсическом действии действующего вещества, которое

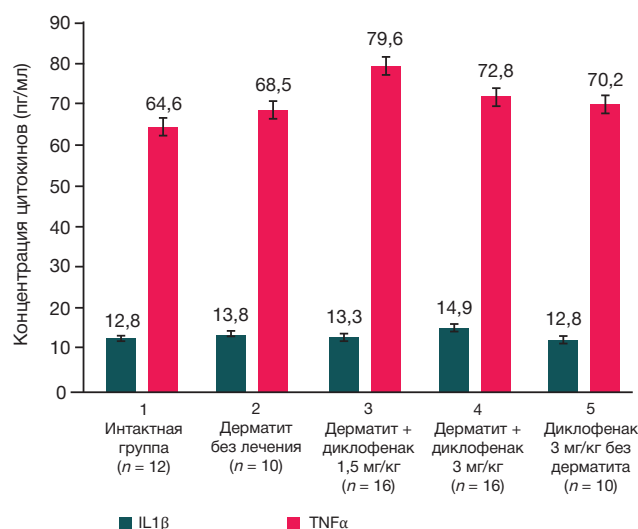
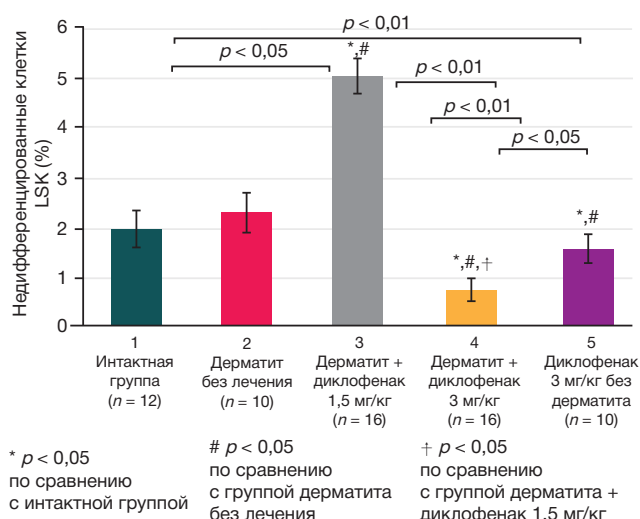


Рис. 2. Динамика изменений популяции Lin-Sca-1+c-Kit+ (LSK) клеток (%) костного мозга у экспериментальных животных различных групп на 3 сутки исследования. Данные представлены как $M \pm SD$. Для оценки различий использовали ANOVA с пост-хок-тестом Тьюки ($p < 0,05$)

на фоне воспаления при применении препарата в высоких дозах только усиливается. Подобные изменения наблюдаются и в отношении процентной доли LSK-клеток, что также свидетельствует о наличии прямого миелотоксического действия диклофенака натрия, не связанного исключительно с воспалительным процессом.

Применение диклофенака натрия отражается и на показателях цитокинового профиля IL1 β и TNF α . В группе на фоне изолированного воспаления возрастает уровень TNF α , который на фоне дерматита проявляет провоспалительные свойства и приводит к повышению IL1 β . В группе на фоне дерматита с введением 1,5 мг/кг диклофенака натрия концентрация IL1 β снижается, что обусловлено противовоспалительными свойствами диклофенака натрия. Возрастает концентрация TNF α , который при таких условиях способен проявлять противовоспалительные свойства, подобные изменения могут свидетельствовать о компенсаторной активации иммунорегуляторных механизмов на фоне умеренного воздействия препарата [29].

В группе с дерматитом на фоне введения 3 мг/кг диклофенака концентрация IL1 β достигает своего максимального значения и превышает аналогичные показатели во всех остальных группах, приводя только к прогрессированию воспалительного процесса в организме. Концентрация TNF α снизилась по отношению к показателям группы животных с дерматитом на фоне введения 1,5 мг/кг действующего вещества, оставаясь стабильно высокой по отношению к группам контроля и дерматита. Подобные изменения могут указывать на провоспалительные свойства TNF α , усиление провоспалительного ответа и развитие дозозависимого токсического эффекта диклофенака натрия [5].

В группе с дерматитом на фоне введения 3 мг/кг концентрация IL1 β не изменилась в сравнении с контрольной группой, что может свидетельствовать о прямом влиянии диклофенака натрия на цитокиновый профиль костного мозга. Концентрация TNF α остается на высоком уровне, в сравнении с контрольной группой и группой на фоне изолированного дерматита, но она ниже, чем у животных, которые получали диклофенак натрия на фоне воспалительного процесса.

Ограничение исследования

Следует отметить, что интерпретация изменений уровня TNF α требует осторожности, поскольку данный цитокин обладает плейотропными эффектами и способен участвовать как в активации, так и в регуляции воспалительного процесса. В настоящем исследовании повышение его концентрации в сочетании с увеличением уровня IL1 β и выраженным снижением клеточности костного мозга, вероятно, отражает усиление воспалительного и цитотоксического воздействия препарата [14, 15, 18].

ВЫВОДЫ

В результате проведенного экспериментального исследования диклофенак натрия оказывал дозозависимое влияние на клеточный состав костного мозга, популяцию гемопоэтических стволовых и прогениторных клеток (LSK) и цитокиновый профиль в условиях экспериментального дерматита и при изолированном его применении. Применение диклофенака натрия в дозе 1,5 мг/кг приводило к токсическим изменениям, которые проявлялись снижением общей клеточности костного мозга при одновременном увеличении доли LSK-клеток, что может отражать компенсаторную активацию гемопоэтических стволовых и прогениторных клеток. Введение диклофенака натрия в дозе 3 мг/кг имело наиболее выраженные последствия, которые проявлялись в наиболее выраженном угнетении гемопоэза: количество клеток и LSK-клеток костного мозга снижалось на фоне одновременного роста концентрации провоспалительных цитокинов, что указывает на развитие миелотоксического и провоспалительного эффекта высокой дозы препарата. Полученные данные подтверждают, что высокая доза диклофенака натрия оказывает выраженное негативное влияние на костный мозг и усиливает воспалительный ответ, тогда как низкая доза сопровождается менее выраженными изменениями и признаками компенсаторной активации стволовых клеток. Перспективы дальнейших исследований связаны с изучением длительного воздействия диклофенака натрия, расширением спектра исследуемых цитокинов и включением молекулярных маркеров регуляции гемопоэза, включая микроРНК, с целью более точной оценки механизмов его влияния и потенциального клинического значения.

Литература

1. Bagmut IYu, Ivanov OS, Sheremet MI, Smirnov SM, Kolisnyk IL, Ivanova JV, et al. Isolation of megakaryocytes using magnetic cell separation and adverse effects induced by diclofenac toxicity in an experiment. *J Med Life*. 2022; 15 (1): 65–70. DOI: 10.25122/jml-2020-0129.
2. Ivanov O, Haidash O, Voloshin V, Kondratov S, Smirnov A. Influence of the acting substance sodium diclofenac on bone marrow cells. *Georgian Medical News*. 2020; 306: 137–42. PMID: 33130661.
3. Ivanov AS, Tananakina TP, Kashchenko SA, Pogorelova IA. Expression of microRNA miR146a in the blood plasma of rats with obesity and knee arthrosis after administration of dexamethasone. *Bulletin of RSMU*. 2025; 6: 209–15. DOI: 10.24075/brsmu.2025.056.
4. Ivanov OS, Vasylenko OV. Effect of diclofenac sodium on granulocytic cells of the bone marrow of laboratory mice. *Sciences of Europe*. 2020; 52–2: 14–20. Available from: <https://cyberleninka.ru/article/n/vpliv-diklofenaku-natriyu-na-klitini-granulotsitarno-ryadu-kistkovogo-mozku-laboratornih-mishey> (дата обращения: 21.03.2026).
5. Bagmut IYu, Ivanov OS, Erofeeva VV, Abramova TV, Kion OI, Ermolash TA, et al. Effect of the active substance diclofenac sodium on bone marrow cells. *Sciences of Europe*. 2020; 53–2 (53): 13–19. Available from: <https://cyberleninka.ru/article/n/effect-of-the-active-substance-diclofenac-sodium-on-bone-marrow-cells> (дата обращения: 21.03.2026).
6. Bemidinezhad A, Zojaji SA, Jamshidi ST, Mohammadi M, Alavi MS, Ghorbani A. Evaluation of acute, subacute, and subchronic toxicity of a hepatoprotective herbal formulation. *Toxicol Rep*. 2023; 11: 452–459. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2023.11.002>.
7. Hadi WH, Abood AH, Imarah AAS. Histopathological changes affected by oral administration of diclofenac sodium in the bone marrow of male albino rats (*Rattus rattus*). *Punjab Univ J Zool*. 2025; 41 (1): 63–69. Available from: <https://dx.doi.org/10.17582/journal.pujz/2025/41.1.63.69>.
8. Aboubakr M, Abdelkader A, Habotta OA, Adel N, Emam MA, Abdelhieh EY, et al. Cefepime and diclofenac sodium combined treatment–potentiated multiple organ injury: Role of oxidative damage and disrupted lipid metabolism. *J Biochem Mol Toxicol*. 2021; 35: e22929. Available from: <https://doi.org/10.1002/jbt.22929>.
9. Ahire D, Heyward S, Prasad B. Intestinal metabolism of diclofenac by polymorphic UGT2B17 correlates with its highly variable pharmacokinetics and safety across populations. *Clin Pharmacol Therapeut*. 2023; 114: 161–72. Available from: <https://doi.org/10.1002/cpt.2907>.
10. Minardi ML, Fato I, Di Gennaro F, Mosti S, Mastrobattista A, Cerva C, et al. Common and rare hematological manifestations and adverse drug events during treatment of active TB: A state of art. *Microorganisms*. 2021; 9: 1477. Available from: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071477>.
11. Недоспасов С. А. Цитокины — регуляторы иммунитета. Вестник Московского университета. Серия 16. Биология. 2024; 79 (2S): 16–21. DOI: 10.55959/MSU0137-0952-16-79-2S-3.
12. Потекаев Н. Н., Терещенко Г. П., Жукова О. В., Гаджигороева А. Г., Ханферьян Р. А. Сравнительная оценка цитокинового профиля у пациентов детского возраста с гнездовой алопецией с учетом наличия сопутствующих atopических заболеваний: наблюдательное когортное поперечное исследование. Кубанский научный медицинский вестник. 2025; 32 (4): 82–95. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2025-32-4-82-95>.
13. Насонов Е. Л., Самсонов М. Ю. Роль интерлейкина 1 в развитии заболеваний человека: фокус на анакире (рецепторном антагонисте ИЛ-1). Научно-практическая ревматология. 2022; 60 (3): 280–98. DOI: 10.47360/1995-4484-2022-280-298.
14. Терещенко И. В., Каюшев П. Е. Фактор некроза опухоли α и его роль в патологии. РМЖ. Медицинское обозрение. 2022; 6 (9): 523–27. DOI: 10.32364/2587-6821-2022-6-9-523-527.
15. Тополянская С. В. Фактор некроза опухоли альфа и возрастассоциированная патология. Архив внутренней медицины. 2020; 10 (6): 414–21. DOI: 10.20514/2226-6704-2020-10-6-414-421.
16. Алексеева Е. И., Тепаев Р. Ф., Шилькрот И. Ю., Дворяковская Т. М., Сурков А. Г., Криулин И. А. COVID-19-индуцированный «цитокиновый шторм» — особая форма синдрома активации макрофагов. Вестник РАМН. 2021; 76 (1): 51–66. DOI: <https://doi.org/10.15690/vramn1410>.
17. Chen X-Y, Yan B-X, Man X-Y. TNF α Inhibitor may be effective for severe COVID-19: learning from toxic epidermal Necrolysis. *Ther Adv Respir Dis*. 2020; 14: 1753466620926800. DOI: 10.1177/1753466620926800.
18. Qin C, Zhou L, Hu Z, Zhang S, Yang S, Tao Y, et al. Dysregulation of Immune Response in Patients With Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clin Infect Dis*. 2020; 71 (15): 762–8. DOI: 10.1093/cid/ciaa248.
19. Fara A, Mitrev Z, Rosalia RA, Assas BM. Cytokine Storm and COVID-19: a Chronicle of proinflammatory Cytokines. *Open Biol*. 2020; 10 (9): 200160. DOI: 10.1098/rsob.200160.
20. Ахмеджанова Н. И. Значимость цитокинового профиля при ренальных осложнениях у детей в период пандемии COVID-19: наблюдательное когортное ретроспективное клиническое исследование. Кубанский научный медицинский вестник. 2025; 32 (1): 29–38. Available from: <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2025-32-1-29-38>.
21. Li P, Zheng Y, Chen X. Drugs for Autoimmune Inflammatory Diseases: From Small Molecule Compounds to Anti-TNF Biologics. *Front Pharmacol*. 2017; 8: 460. DOI: 10.3389/fphar.2017.00460.
22. Zhao Y, Zhang H, Li N, Li J, Zhang L. Chronic Pain after Bone Fracture: Current Insights into Molecular Mechanisms and Therapeutic Strategies. *Brain Sciences*. 2022; 12 (8): 1056. Available from: <https://doi.org/10.3390/brainsci12081056>.
23. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. Введ. 18.03.1986. Страсбург, 1986; 13 с.
24. Директива Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях (соответствует требованиям европейской экономической зоны) № 2010/63/еу. Введ. 01.01.2013. Страсбург, 2010; 48 с.
25. Ivanova JuV, Gramatiuk SM, Kryvoruchko IA, Prasol VO, Pulyaeva IS, Miasoiedov KV, et al. The Effect of pulsed photobiomodulation on proliferation and migration of human mesenchymal stem cells in vitro. *Clinical and preventive medicine*. 2024; (5): 87–92. Available from: <https://doi.org/10.31612/2616-4868.5.2024.11>.
26. Gramatiuk SM, Ivanova YuV, Hudyma AA, Sargsyan K, Kryvoruchko IA, Pulyaeva IS. Differentiation of neurosphere after transplantation into the damaged spinal cord. *J Med and Life*. 2023; 16 (5): 689–98. DOI: 10.25122/jml-2022-0346.
27. Muhammad Zeeshan Rana. 'NSAIDs Effect on Bone Healing'. *Innovation in Osteogenesis Research*, IntechOpen, 18 June 2024. Crossref. DOI: 10.5772/intechopen.1005088.
28. Juliana Oluwafunmilayo Ajayi, Emmanuel Bukoye Oyewo, Adeniran Sanmi Adekunle, Peace Temidayo Ige, Peter Ayomide Akomolafe. Subchronic doses of artemether-lumefantrine, ciprofloxacin and diclofenac precipitated inflammatory and immunological dysfunctions in female Wistar rats. *Cytokine*. 2024; 176: 156515. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2024.156515>.
29. Gramatiuk S, Kryvoruchko I, Ivanova Y, Hubbard E, Noebauer-Babenko M, Sargsyan K. Artificial Intelligence-Based Quality Control of Cell Lines. *Biopreserv Biobank*. 2025. DOI: 10.1177/19475535251367317.

References

1. Bagmut IYu, Ivanov OS, Sheremet MI, Smirnov SM, Kolisnyk IL, Ivanova JV, et al. Isolation of megakaryocytes using magnetic cell separation and adverse effects induced by diclofenac toxicity in an experiment. *J Med Life*. 2022; 15 (1): 65–70. DOI: 10.25122/jml-2020-0129.
2. Ivanov O, Haidash O, Voloshin V, Kondratov S, Smirnov A. Influence of the acting substance sodium diclofenac on bone marrow cells. *Georgian Medical News*. 2020; 306: 137–42. PMID: 33130661.
3. Ivanov AS, Tananakina TP, Kashchenko SA, Pogorelova IA. Expression of microRNA miR146a in the blood plasma of rats with obesity and knee arthrosis after administration of dexamethasone. *Bulletin of RSMU*. 2025; 6: 209–15. DOI: 10.24075/brsmu.2025.056.
4. Ivanov OS, Vasylenko OV. Effect of diclofenac sodium on granulocytic cells of the bone marrow of laboratory mice. *Sciences of Europe*. 2020; 52–2: 14–20. Available from: <https://cyberleninka.ru/article/n/vpliv-diklofenaku-natriyu-na-klitini-granulotsitarnoryadu-kistkovogo-mozku-laboratornih-mishey> (дата обращения: 21.03.2026).
5. Bagmut IYu, Ivanov OS, Erofeeva VV, Abramova TV, Kion OI, Ermolash TA, et al. Effect of the active substance diclofenac sodium on bone marrow cells. *Sciences of Europe*. 2020; 53–2 (53): 13–19. Available from: <https://cyberleninka.ru/article/n/effect-of-the-active-substance-diclofenac-sodium-on-bone-marrow-cells> (дата обращения: 21.03.2026).
6. Bemidinezhad A, Zojaji SA, Jamshidi ST, Mohammadi M, Alavi MS, Ghorbani A. Evaluation of acute, subacute, and subchronic toxicity of a hepatoprotective herbal formulation. *Toxicol Rep*. 2023; 11: 452–459. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2023.11.002>.
7. Hadi WH, Abood AH, Ijarah AAS. Histopathological changes affected by oral administration of diclofenac sodium in the bone marrow of male albino rats (*Rattus rattus*). *Punjab Univ J Zool*. 2025; 41 (1): 63–69. Available from: <https://dx.doi.org/10.17582/journal.pujz/2025/41.1.63.69>.
8. Aboubakr M, Abdelkader A, Habotta OA, Adel N, Emam MA, Abdelhiee EY, et al. Cefepime and diclofenac sodium combined treatment–potentiated multiple organ injury: Role of oxidative damage and disrupted lipid metabolism. *J Biochem Mol Toxicol*. 2021; 35: e22929. Available from: <https://doi.org/10.1002/jbt.22929>.
9. Ahire D, Heyward S, Prasad B. Intestinal metabolism of diclofenac by polymorphic UGT2B17 correlates with its highly variable pharmacokinetics and safety across populations. *Clin Pharmacol Therapeut*. 2023; 114: 161–72. Available from: <https://doi.org/10.1002/cpt.2907>.
10. Minardi ML, Fato I, Di Gennaro F, Mosti S, Mastrobattista A, Cerva C, et al. Common and rare hematological manifestations and adverse drug events during treatment of active TB: A state of art. *Microorganisms*. 2021; 9: 1477. Available from: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071477>.
11. Nedospasov SA. Cytokines — regulators of immunity. *Bulletin of Moscow University. Series 16. Biology*. 2024; 79 (2S): 16–21. DOI: 10.55959/MSU0137-0952-16-79-2S-3. Russian.
12. Potekaev NN, Tereshchenko GP, Zhukova OV, Gadzhigroeva AG, Khanferyan RA. Comparative evaluation of cytokine profiles in pediatric alopecia areata patients considering concomitant atopic diseases: An observational cohort cross-sectional study. *Kuban Scientific Medical Bulletin*. 2025; 32 (4): 82–95. Available from: <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2025-32-4-82-95>. Russian.
13. Nasonov EL, Samsonov MYu. The role of interleukin 1 in the development of human diseases: focus on anakinra (IL1 receptor antagonist). *Scientific and Practical Rheumatology*. 2022; 60 (3): 280–98. DOI: 10.47360/1995-4484-2022-280-298. Russian.
14. Tereshchenko IV, Kayushev PE. Tumor necrosis factor α and its role in pathology. *RMJ. Medical Review*. 2022; 6 (9): 523–27. DOI: 10.32364/2587-6821-2022-6-9-523-527. Russian.
15. Topolyanskaya SV. Tumor necrosis factor alpha and age-associated pathology. *Archive of Internal Medicine*. 2020; 10 (6): 414–21 DOI: 10.20514/2226-6704-2020-10-6-414-421. Russian.
16. Alexeeva EI, Tepaev RF, Shilkrot IY, Dvoryakovskaya TM, Surkov AG, Kriulin IA. COVID-19-Induced “Cytokine Storm” — a Unique Form of Macrophage Activation Syndrome. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2021; 76 (1): 51–66. Available from: <https://doi.org/10.15690/vramn1410>. Russian.
17. Chen X-Y, Yan B-X, Man X-Y. TNF α Inhibitor may be effective for severe COVID-19: learning from toxic epidermal Necrolysis. *Ther Adv Respir Dis*. 2020; 14: 1753466620926800. DOI: 10.1177/1753466620926800.
18. Qin C, Zhou L, Hu Z, Zhang S, Yang S, Tao Y, et al. Dysregulation of Immune Response in Patients With Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clin Infect Dis*. 2020; 71 (15): 762–8. DOI: 10.1093/cid/ciaa248.
19. Fara A, Mitrev Z, Rosalia RA, Assas BM. Cytokine Storm and COVID-19: a Chronicle of proinflammatory Cytokines. *Open Biol*. 2020; 10 (9): 200160. DOI: 10.1098/rsob.200160.
20. Axmedjanova N.I. Significance of cytokine profile in renal complications in children during the COVID-19 pandemic: An observational cohort retrospective clinical study. *Kuban Scientific Medical Bulletin*. 2025; 32 (1): 29–38. Available from: <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2025-32-1-29-38>. Russian.
21. Li P, Zheng Y, Chen X. Drugs for Autoimmune Inflammatory Diseases: From Small Molecule Compounds to Anti-TNF Biologics. *Front Pharmacol*. 2017; 8: 460. DOI: 10.3389/fphar.2017.00460.
22. Zhao Y, Zhang H, Li N, Li J, Zhang L. Chronic Pain after Bone Fracture: Current Insights into Molecular Mechanisms and Therapeutic Strategies. *Brain Sciences*. 2022; 12 (8): 1056. Available from: <https://doi.org/10.3390/brainsci12081056>.
23. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experiments or Other Scientific Purposes. 18.03.1986. Strasbourg, 1986; 13 pp.
24. Directive No. 2010/63/eu of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes (complies with the requirements of the European Economic Area). 01.01.2013. Strasbourg, 2010. 48 pp. Russian.
25. Ivanova JuV, Gramatiuk SM, Kryvoruchko IA, Prasol VO, Pulyaeva IS, Miasoiedov KV, et al. The Effect of pulsed photobiomodulation on proliferation and migration of human mesenchymal stem cells in vitro. *Clinical and preventive medicine*. 2024; (5): 87–92. Available from: <https://doi.org/10.31612/2616-4868.5.2024.11>.
26. Gramatiuk SM, Ivanova YuV, Hudyma AA, Sargsyan K, Kryvoruchko IA, Pulyaeva IS. Differentiation of neurosphere after transplantation into the damaged spinal cord. *J Med and Life*. 2023; 16 (5): 689–98. DOI: 10.25122/jml-2022-0346.
27. Muhammad Zeeshan Rana. ‘NSAIDs Effect on Bone Healing’. *Innovation in Osteogenesis Research*, IntechOpen, 18 June 2024. Crossref. DOI: 10.5772/intechopen.1005088.
28. Juliana Oluwafunmilayo Ajayi, Emmanuel Bukoye Oyewo, Adeniran Sanmi Adekunle, Peace Temidayo Ige, Peter Ayomide Akomolafe. Subchronic doses of artemether-lumefantrine, ciprofloxacin and diclofenac precipitated inflammatory and immunological dysfunctions in female Wistar rats. *Cytokine*. 2024; 176: 156515. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2024.156515>.
29. Gramatiuk S, Kryvoruchko I, Ivanova Y, Hubbard E, Noebauer-Babenko M, Sargsyan K. Artificial Intelligence-Based Quality Control of Cell Lines. *Biopreserv Biobank*. 2025. DOI: 10.1177/19475535251367317.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВООЖОВОГО ДЕЙСТВИЯ НОВОГО КРЕМА НА ОСНОВЕ ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ *GINKGO BILOBA L.* ПОЛИПРЕНОЛОВ

А. А. Бобракова¹ ✉, Н. Г. Салихова², А. Н. Пантелеева², В. В. Яснецов^{2,3}, О. В. Проскурина², В. Ю. Балабаньян⁴

¹ Медицинский институт, Орловский государственный университет имени И. С. Тургенева, Орел, Россия

² АО «Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ», г. Старая Купавна, Московская область, Россия

³ Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Москва, Россия

⁴ Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

Возросшее за последние годы количество чрезвычайных ситуаций, вооруженных конфликтов, а также бытовой травматизм обуславливают повышенный риск получения термических ожогов у достаточно широкой группы людей. Разработка и изучение новых эффективных и безопасных препаратов с противоожоговым действием в настоящее время продолжает оставаться актуальным. Целью исследования было изучить противоожоговое действие нового крема на основе полипренолов, выделенных из *Ginkgo biloba L.*, на модели термического ожога у крыс. На основе полипренолов был разработан новый крем следующего состава: действующее вещество — высокоочищенная субстанция полипренолов *Ginkgo biloba L.* с их содержанием не менее 95%, вспомогательные вещества из группы липидов (фосфатидилхолин, фосфатидилсерин) и антиоксиданты из группы токоферолов. Эксперименты выполнены на 32 крысах-самцах линии Вистар массой 280–320 г. Оценено влияние нового крема с полипренолами и препаратов сравнения метилурацила и декспантенола на динамику площади поражения кожи у крыс с термическим ожогом III Б степени. Показано, что на 21-е сутки после ожога новый крем уменьшал площадь поражения кожи крыс по сравнению с контролем в 2,3 раза. По результатам морфологической оценки по выраженности противоожогового действия данный крем превосходит препарат сравнения метилурацил (диоксометилтетрагидропиримидин) в 1,3 раза. Отмечена перспективность дальнейшего доклинического изучения в качестве потенциального противоожогового и ранозаживляющего средства.

Ключевые слова: полипренолы, *Ginkgo biloba L.*, крем, термический ожог, противоожоговое действие, крысы

Вклад авторов: А. А. Бобракова, Н. Г. Салихова — разработка концепции; А. Н. Пантелеева, А. А. Бобракова — проведение исследования; А. А. Бобракова, О. В. Проскурина — подготовка и редактирование текста; В. В. Яснецов, В. Ю. Балабаньян — утверждение окончательного варианта статьи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено комиссией по биоэтике АО «Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ» (протокол № 05/2025 от 30 апреля 2025 г.), проведено в соответствии с ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики», Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 81 «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств» и Рекомендациями Коллегии Евразийской экономической комиссии от 14 ноября 2023 г. № 33 «Руководство по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований».

✉ **Для корреспонденции:** Александра Александровна Бобракова
ул. Комсомольская, д. 95, 302026, г. Орел, Россия; novikovalexandra2012@mail.ru

Статья получена: 12.05.2026 **Статья принята к печати:** 28.05.2026 **Опубликована онлайн:** 18.06.2026

DOI: 10.24075/vrgmu.2026.032

EXPERIMENTAL INVESTIGATION OF THE BURN-HEALING PROPERTIES OF A NOVEL CREAM BASED ON POLYPRENOLS DERIVED FROM *GINKGO BILOBA L.*

Bobrakova AA¹ ✉, Salikhova NG², Panteleeva AN², Yasnetsov VV^{2,3}, Proskurina OV², Balabanyan VYu⁴

¹ Medical Institute, Turgenev Orel State University, Orel, Russia

² All-Union Scientific Center for the Safety of Biologically Active Substances, Staraya Kupavna, Moscow region, Russia

³ Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

⁴ Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

In recent years, the number of emergencies, armed conflicts, and household injuries has increased, which has elevated the risk of thermal burns for a broad segment of the population. Design and testing of new, safe and efficient burn-healing drugs remains a relevant task. This study aimed to evaluate the burn — healing effects of a new cream containing polyphenols isolated from *Ginkgo biloba L.* in a rat thermal-burn model. The cream's active ingredient is a highly purified (≥ 95%) *Ginkgo biloba L. polyphenols*, and the excipients are lipids (phosphatidylcholine, phosphatidylserine) with tocopherol antioxidants. The experimental animals were 32 male Wistar rats weighing 280–320 g. We evaluated the effect of the new polyphenol cream and the reference preparations methyluracil and dexpanthenol on the dynamics of the skin lesion area in rats with grade III-B skin burns. The experiment showed that, on day 21 after the burn, the new cream reduced the wound area in rats by 2.3 times compared with the controls. Morphological examination showed that the new cream had a 1.3-fold better burn-healing effect than the comparison drug methyluracil (dioxomethyltetrahydropyrimidine). Further preclinical study of the cream as a potential burn and wound healing agent seems promising.

Keywords: polyphenols, *Ginkgo biloba L.*, cream, thermal burn, burn-healing effect, rats

Author contribution: Bobrakova AA, Salikhova NG — concept development; Panteleeva AN, Bobrakova AA — conducting the study; Bobrakova AA, Proskurina OV — text preparation and editing; Yasnetsov VV, Balabanyan VYu — approval of the final version of the article.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of All-Union Scientific Center for the Safety of Biologically Active Substances (Minutes No. 05/2025 of April 30, 2025), conducted in accordance with GOST 33044-2014 "Principles of good laboratory practice", Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission of November 3, 2016 No. 81 "On approval of the rules of good laboratory practice of the Eurasian Economic Union in the field of drug circulation," and Recommendations of the Board of the Eurasian Economic Commission of November 14, 2023 No. 33 "Guidelines for working with laboratory (experimental) animals during preclinical (non-clinical) studies."

✉ **Correspondence should be addressed:** Alexandra A. Bobrakova
Komsomolskaya, 95, 302026, Orel, Russia; novikovalexandra2012@mail.ru

Received: 12.05.2026 **Accepted:** 28.05.2026 **Published online:** 18.06.2026

DOI: 10.24075/brsmu.2026.032

Как известно, ожоговая травма — тяжелое повреждение тканей, которое наиболее часто вызвано термическим воздействием и может привести к снижению основных функций организма, инвалидизации и смерти [1–3]. Возросшее за последние годы количество чрезвычайных ситуаций, вооруженных конфликтов, а также бытовой травматизм обуславливают повышенный риск получения термических ожогов у достаточно широкой группы людей [4]. Несмотря на интенсивное развитие регенеративной медицины, успешное лечение ожоговых ран до сих пор остается непростой задачей. Ее решению препятствует замедление процесса заживления вследствие серьезных метаболических нарушений, заболеваний сердечно-сосудистой системы, раневой инфекции и др., а также недостаточной эффективности применяемых лекарственных средств [2, 4]. В связи с этим разработка и изучение новых эффективных и безопасных препаратов с противоожоговым действием в настоящее время продолжают оставаться актуальными.

Для создания нового средства фармакотерапии термических ожогов наше внимание привлекли полипrenoлы — группа длинноцепочечных изопреноидных спиртов, которые содержатся в клетках бактерий, растений и млекопитающих. Уникальность химического строения и наличие полимеров-гомологов определяют многообразие фармакологических свойств данного класса химических соединений. Являясь природными биорегуляторами, они участвуют в синтезе гликопротеинов клеточных мембран, оказывают выраженное гепато-, нейро- и кардиопротекторное действие, улучшают когнитивные функции, обладают антиоксидантной, гипополипидемической, противовоспалительной, иммуномодулирующей, антибактериальной, противовирусной и противоопухолевой активностью, стимулируют синтез белка, проявляя регенераторные свойства и др. [5–9].

Основными источниками получения субстанции полипrenoлов являются хвойные деревья — различные виды ели (*Picea spp.*), пихты (*Abies spp.*), сосны (*Pinus spp.*), а также гинкго двулопастный (*Ginkgo biloba L.*). При этом показано преобладание в субстанции *Picea abies L.* более коротких полипrenoлов по сравнению с образцом *Ginkgo biloba L.* [10].

На основе полипrenoлов был разработан новый крем следующего состава: действующее вещество — субстанция полипrenoлов *Ginkgo biloba L.*, высокоочищенная с их содержанием не менее 95%; вспомогательные вещества из группы липидов (фосфатидилхолин, фосфатидилсерин) и антиоксиданты из группы токоферолов.

В связи с этим цель настоящей работы — изучение противоожогового действия нового крема на основе полипrenoлов, выделенных из *Ginkgo biloba L.*, на модели термического ожога у крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на 32 крысах-самцах линии Вистар массой 280–320 г (филиал «Андреевка» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», Московская область, Россия). Животных содержали в контролируемых условиях вивария (температура 20–22 °С, относительная влажность воздуха 40–50%, 12-часовой цикл освещения), с доступом к стандартному гранулированному корму и фильтрованной водопроводной воде *ad libitum*. Перед постановкой эксперимента все особи проходили карантин в течение 14 дней.

Животным под общей анестезией смесью золетила и ксилазина (внутримышечно) наносили на кожу в области холки термический ожог III Б степени в соответствии с рекомендациями «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (2012) [11]. Для получения ожога на предварительно депилированную кожу крыс устанавливали на 15 с разогретую до 120 °С металлическую гирю (из нержавеющей стали) массой 100 г (диаметр контактной поверхности — 2,3 см). В дальнейшем после индукции ожога и в течение периода наблюдения обезболивание не проводили.

Животные были разделены на четыре группы по восемь особей в каждой: К — контроль (ожог без лечения); М — метилурацил; Д — декспантенол; ПП — новый крем с полипrenoлами. На область ожога ежедневно в течение 21 суток в дозе 0,15 г наносили исследуемый крем с полипrenoлами, а также препараты сравнения — диоксометилтетрагидропиримидин (метилурацил, мазь для местного и наружного применения 10%; «Нижфарм», Россия) и декспантенол (пантенол 3Д, мазь для наружного применения 5%; «Зеленая дубрава», Россия). Выбор препаратов сравнения был обусловлен тем, что они имеют различные механизмы ранозаживляющего действия (диоксометилтетрагидропиримидин обладает анаболической активностью и нормализует нуклеиновый обмен, декспантенол восполняет дефицит пантотеновой кислоты, являющейся субстратным стимулятором синтеза кофермента А) и широко применяются в клинической практике. Наблюдение за процессом заживления ожоговых ран проводили ежедневно, величину ожоговых дефектов измеряли раз в 7 суток, подсчитывая площадь поражения кожи с помощью программы ImageJ (Национальные институты здравоохранения и лаборатория оптической и вычислительной аппаратуры Университета Висконсина; США).

На 21-е сутки животных подвергали эвтаназии (CO₂-камера), препарировали участок кожи в области ожога и фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина, после чего образцы биоматериала по стандартной методике заливали в парафин. Морфологическое исследование выполняли на светооптическом уровне. Срезы толщиной 5 мкм изготавливали на ротационном микротоме Accu-Cut SRM (Sakura, Германия) и окрашивали гематоксилином и эозином. Просмотр микропрепаратов проводили на исследовательском универсальном микроскопе (Olympus, Япония), используя малое (10 × 4) и большое увеличение (10 × 40); для фотофиксации использовали камеру UC30 (Olympus, Япония).

Кроме описания микропрепаратов, для объективной оценки динамики морфологических изменений кожи на 21-е сутки после ожога проводили их количественный анализ в баллах по шкале, учитывая следующие показатели:

- степень присутствия мононуклеарных лейкоцитов / новообразованных сосудов / клеток жировой ткани в дерме: 0 — отсутствует; 0,5 — единичные клетки; 1 — умеренное присутствие; 2 — сильно выраженное присутствие;
- степень образования корочек / рыхлой соединительной ткани / волокнистой соединительной ткани в области повреждения: 0 — отсутствует; 0,5 — присутствует;
- степень образования слоев кожи в месте повреждения: 0 — отсутствие разделения на слои в раневой области; 0,5 — присутствует, дерма и эпидермис не сформированы; 1 — присутствует дерма и эпидермис;
- степень сформированности эпителия в раневой области: 0 — отсутствует; 0,5 — частично присутствует; 1 — полностью сформирован.

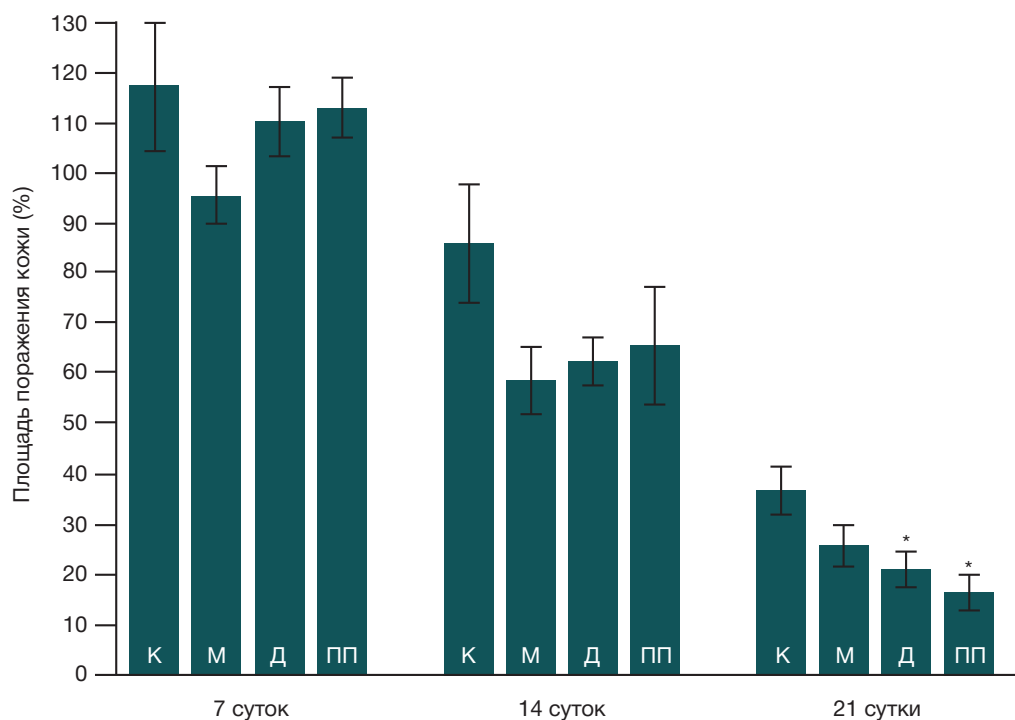


Рис. 1. Влияние нового крема с полипренолами и препаратов сравнения метилурацила и декспантенола на динамику площади поражения кожи у крыс с термическим ожогом III Б степени ($M \pm m$). Площадь поражения кожи на первые сутки после ожога принята за 100%. Здесь и на рис. 2 и 3: К — контроль; М — метилурацил; Д — декспантенол; ПП — новый крем с полипренолами. Различия статистически значимы по сравнению с контролем: * — $p < 0,05$ (критерий Стьюдента)

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы BioStat Pro 7. Данные проверяли на нормальность распределения по критерию Шапиро–Уилка. Так как выборки имели нормальное или близкое к нормальному распределение, значимость различий между экспериментальными группами определяли, используя параметрический t -критерий Стьюдента. Результаты представляли в виде $M \pm m$. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У крыс при моделировании термического ожога кожи III Б степени в течение первых суток образовывалась небольшая сухая корка (струп) темно-красного цвета с ровными краями. Площадь поражения кожи составила в контрольной группе $381,6 \pm 19,9$ мм², в группах М, Д и ПП — $464,4 \pm 34,6$, $441,8 \pm 22,3$ и $426,2 \pm 11,1$ мм² соответственно. Цвет и форма струпа оставались неизменными в течение всего эксперимента.

Через 7 суток после нанесения ожога площадь поражения кожи во всех исследованных группах животных статистически достоверно не отличалась от данного показателя на первые сутки, принятого за 100% (рис. 1).

Через 14 суток после ожога площадь поражения кожи во всех группах по сравнению с исходными значениями существенно сократилась, однако статистически значимой разницы между действием нового крема с полипренолами, препаратов сравнения метилурацила и декспантенола и контрольными животными обнаружено не было (рис. 1).

Наиболее выраженный ранозаживляющий эффект изучаемого крема наблюдался через 21 сутки от начала эксперимента. Он значимо ($p < 0,05$) уменьшал площадь поражения кожи по сравнению с контролем в 2,3 раза (рис. 1). У некоторых животных происходили полное отслоение струпа и заживление раны.

Несколько менее эффективными оказались метилурацил и декспантенол, причем действие первого из них не носило достоверного отличия от контроля, а второй уменьшал площадь поражения в 1,7 раза ($p < 0,05$) в сравнении с крысами контрольной группы. Необходимо отметить, что у животных указанных групп отслоения струпа не происходило.

Результаты приведенного выше изменения площади поражения кожи подтверждаются данными морфологических исследований. Так, у животных контрольной группы на 21-е сутки после ожога раневая поверхность была покрыта струпом, который обильно инфильтрирован полиморфноядерными лейкоцитами. Эпителизация раны характеризовалась наличием всех слоев на ее краю, доходила до одно- и двуслойного эпидермиса в центре и занимала незначительную (до 20%) часть раневой поверхности. Было также отмечено начало формирования дермы. Под струпом располагалась соединительная ткань, содержащая от умеренного до большого количества новообразованных сосудов и инфильтрированная лейкоцитами (в основном — мононуклеарами и макрофагами). Схожие изменения наблюдались и у крыс в группах метилурацила и декспантенола, но соединительная ткань под струпом содержала большее количество новообразованных сосудов (рис. 2).

В группе с применением нового крема с полипренолами у части животных раневая поверхность была полностью покрыта сформированным эпителием, под которым определялась сформировавшаяся соединительная ткань, содержащая единичные новообразованные сосуды и слабо инфильтрированная лейкоцитами (мононуклеары и макрофаги). У остальных животных раневая поверхность была покрыта струпом, обильно инфильтрированным полиморфноядерными лейкоцитами. Эпителизация занимала от 30% раневой поверхности: со всеми слоями

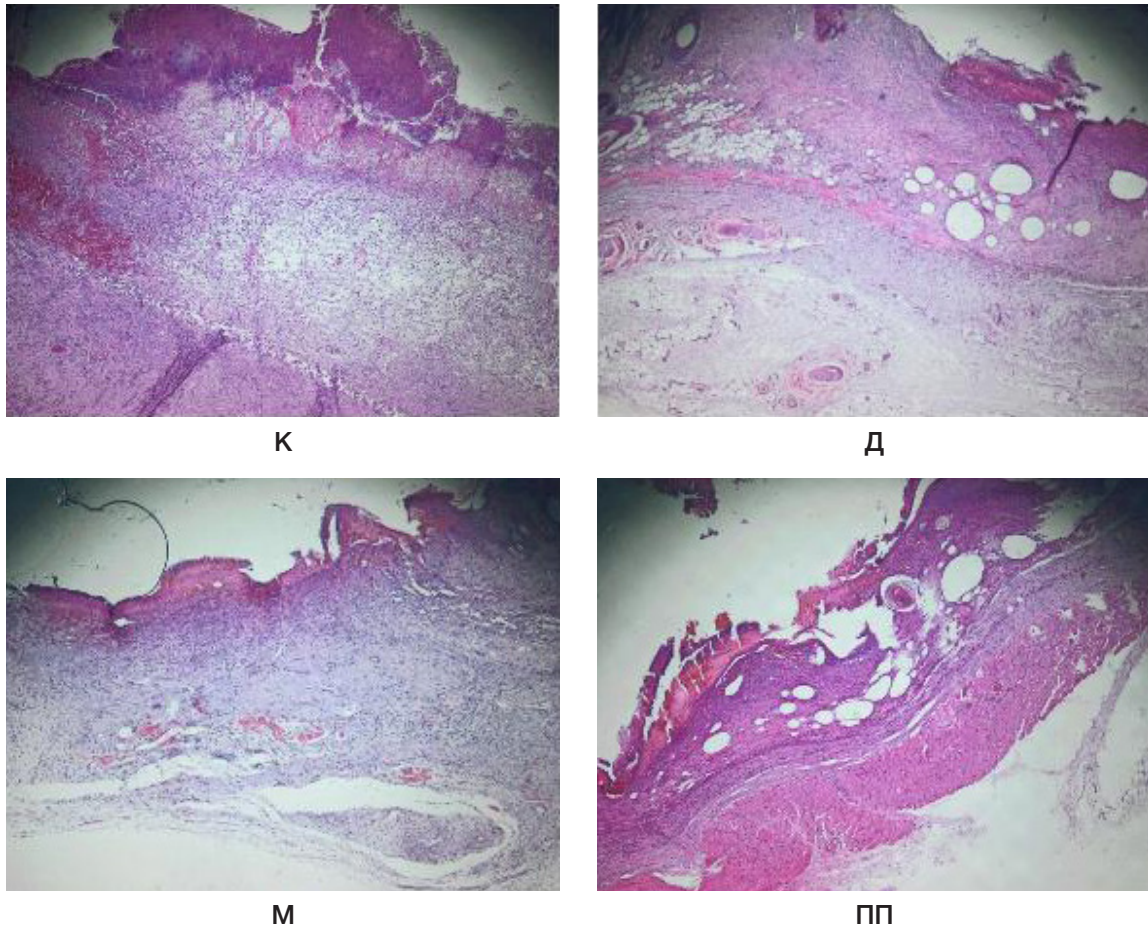


Рис. 2. Морфологические изменения кожи у крыс на 21-е сутки после ожога (окраска гематоксилином и эозином; увеличение 10×4)

по краям раны до одно- и двухслойного эпидермиса в центре. Под струпом определялась соединительная ткань, инфильтрированная лейкоцитами, с большим количеством новообразованных сосудов.

При оценке выраженности морфологических изменений по шкале в баллах на 21-е сутки после ожога показатель в контрольной группе составил $4,1 \pm 0,5$ балла. Эффект метилурацила и декспантенола статистически достоверно не отличался от контрольных значений (рис. 3). Новый крем с полипренолами вызывал более выраженное заживление раны, значимо ($p < 0,05$) превосходя по количеству баллов группы контроля и метилурацила в 1,4 и 1,3 раза соответственно (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные нами результаты подтверждаются данными литературы. Так, ранее продемонстрировано, что полипренолы, выделенные из *Alcea nudiflora* (шток-роза голоцветковая), обладают противоожоговыми и ранозаживляющими свойствами у крыс с термическими ожогами III A и B степени, а также резаными плоскостными полнослойными и линейными ранами. Их применение способствовало более раннему закрытию раневого дефекта кожи животных и значительному уменьшению плотности рубца, усиливало процессы эпителизации, развития грануляционной ткани и коллагеногенеза. По выраженности действия изученные полипренолы превосходили облепиховое масло, а их эффект выражался в более быстром, чем у контрольных животных, отхождении струпа и значительной активации пролиферативных

и биосинтетических процессов в клетках эпидермиса и дермы. В свою очередь у крыс с аллоксановым сахарным диабетом показано, что местное применение полипренолов способствует восстановлению основных показателей белкового, углеводного и липидного обмена в клетках эпидермиса и развитию более прочного рубца [12, 13]. Установлено, что индивидуальные полипренолы, полученные из листьев *Vitis vinifera subsp. Silvestris* (виноград дикий), и цельная полипренольная фракция, содержащая токоферолы и фитостерин, обладают у мышей с чистыми плоскостными полнослойными кожными ранами выраженным ранозаживляющим действием, превосходя эффект облепихового масла [14].

В исследовании с участием пациентов с ожогами, гнойными ранами и другими гнойно-воспалительными заболеваниями кожи и мягких тканей различных локализаций установлено, что лекарственный препарат абисил (раствор для местного и наружного применения масляный 20%), содержащий в своем составе природный набор терпеноидов пихты сибирской (*Abies sibirica L.*) и обладающий ранозаживляющим действием в эксперименте, давал положительный клинический эффект у 86,5–96,3% больных [15].

Что касается возможных механизмов ранозаживляющего действия полипренолов, то, по мнению ряда исследователей, они связаны с активацией пластических процессов в клеточных структурах практически всех видов тканей, подавлением окислительного стресса вследствие способности данного класса веществ к окислению, повышением активности ферментов естественной антиоксидантной защиты клеток, а также восполнением

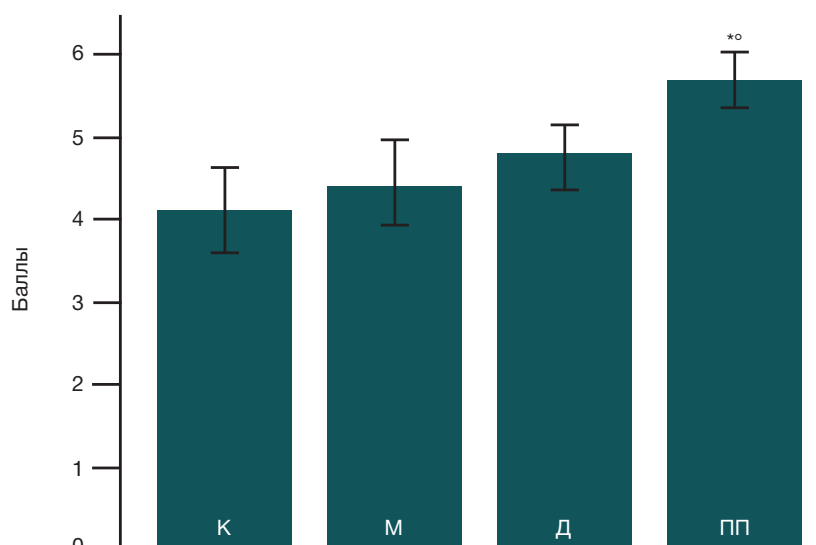


Рис. 3. Влияние нового крема с полифенолами и препаратов сравнения метилурацила и декспантенола на выраженность гистологических изменений кожи (в баллах, $M \pm m$) у крыс с термическим ожогом III Б степени на 21-е сутки. Различия статистически значимы по сравнению с контролем и метилурацилом соответственно: * и ° — $p < 0,05$ (критерий Стьюдента).

уровня долихофосфата и его участия в долихофосфатном цикле — важном метаболическом звене регенерации, дифференциации и пролиферации клеток [16, 17]. Кроме того, полифенолы повышают текучесть и проницаемость биологических мембран, изменяя структуру жирных кислот, что приводит к стимуляции обменных процессов и повышению жизнеспособности клеток [18].

Наши данные об эффектах препаратов сравнения согласуются с результатами исследований других авторов. Ранее было выявлено, что на модели плоскостной кожной раны у крыс метилурацил вызывает полное заживление лишь у части животных на 24–29 сутки эксперимента [19]. В образцах кожи при этом отмечалось большое количество растянутых сосудов (неполная репарация), истонченный эпителий (или он и дерма были вовсе не восстановлены), под дермой — лимфоидная инфильтрация, гемосидероз, отсутствие лейкоцитов и некротического детрита. Как и в нашем исследовании декспантенол у крыс с ожогами III А степени не приводил к отшелушиванию образовавшегося струпа на протяжении всего эксперимента, а заживление раны происходило только к 25-м суткам [20]. Аналогичные результаты были получены и в другой работе в близких экспериментальных условиях: на 21-е сутки после термического ожога у всех животных после применения указанного препарата сохранялись раны со струпом [21].

Необходимо отметить, что выбранная нами экспериментальная модель термического ожога является официально рекомендованной для изучения действия

лекарственных средств [11], но использование полученных с ее помощью результатов для прямой экстраполяции на человека требует тщательного анализа и учета множества факторов, включая методологические, патофизиологические и биохимические.

Таким образом, можно заключить, что у крыс с термическим ожогом III Б степени новый крем на основе полифенолов, выделенных из *Ginkgo biloba L.*, обладает противоожоговыми свойствами, на 21-е сутки после ожога уменьшая площадь поражения кожи по сравнению с контролем в 2,3 раза и превосходя по данным морфологической оценки препарат сравнения метилурацил в 1,3 раза. Данный крем является перспективным для дальнейшего доклинического изучения в качестве потенциального противоожогового и ранозаживляющего средства.

ВЫВОДЫ

У крыс с термическим ожогом III Б степени новый крем на основе полифенолов, выделенных из *Ginkgo biloba L.*, оказывает противоожоговое действие, на 21-е сутки после ожога уменьшая площадь поражения кожи по сравнению с контролем в 2,3 раза. По выраженности противоожогового действия новый крем на основе полифенолов превосходит препарат сравнения метилурацил в 1,3 раза по данным морфологической оценки.

Литература

1. Султанова К. Т., Крышень К. Л., Боровкова К. Е. и др. Патогенез инфицированной ожоговой раны у крыс. Лабораторные животные для научных исследований. 2023; 2: 35–42.
2. Михалевич Е. Н., Ковальская Г. Н. Обзор современных лекарственных средств для наружного применения, используемых в фармакотерапии ожоговой травмы. Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. 2024; 1: 97–105.
3. Palmieri TL, Heard J. Biomarkers of sepsis in burn injury: an update. Burns Trauma. 2025; 13: tkae080.
4. Самойлова А. В., Гостюхина А. А., Большаков М. А., Ростов В. В. Эффект стимуляции заживления ожоговых ран у крыс наносекундными микроволновыми импульсами. Современные вопросы биомедицины. 2022; 6 (1). DOI: 10.51871/2588-0500_2022_06_01_8.
5. Кочнева Е. В., Махароблишвили Д. В., Кольцова Ю. Е. Значение полифенолов в клинической и экспериментальной практике. Вопросы диетологии. 2020; 10 (2): 35–43.
6. Шустов Е. Б., Кашуро В. А., Батоцыренова Е. Г. и др.

- Полипренолы как перспективные нейрофармакологические средства. Биомедицина. 2020; 16 (3): 125–9.
7. Антипина А. А., Попов В. С., Балабаньян В. Ю. Полипренолы как оригинальный класс природных соединений, обладающих широким спектром фармакологической активности. Фармация. 2021; 70 (5): 15–21.
 8. Санин А. В., Пронин А. В., Наровлянский А. Н. и др. Фосфорилированные полипренолы как универсальные агенты подавления вирусной репродукции. Успехи современной биологии. 2022; 142 (3): 268–85.
 9. Boateng ID. Polyphenols in Ginkgo biloba; a review of their chemistry (synthesis of polyphenols and their derivatives), extraction, purification, and bioactivities. Food Chem. 2023; 418: 136006.
 10. Антипина А. А., Попов Н. С., Баранов М. С. и др. Сравнительная характеристика количественного содержания полипренолов в субстанциях, полученных из Ginkgo biloba L. и Picea abies L. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2024; 27 (8): 13–21.
 11. Бурякина А. В., Фролова Н. Ю., Мельникова Т. И. и др. Методические рекомендации по доклиническому изучению дерматотропных лекарственных средств. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М., 2012: 738–45.
 12. Вайс Е. В., Турсунова Н. В., Хушбактова З. А., Сыров В. Н. Об эффективности полипренолов из Alceae Nudiflora при использовании их в качестве противоожогового средства. Практическая фитотерапия. 2011; 2: 12–16.
 13. Вайс Е. В., Турсунова Н. В., Хушбактова З. А., Сыров В. Н. Влияние полипренолов из Alceae nudiflora и облепихового масла на метаболизм кожи и процесс заживления линейных кожных ран у нормальных и аллоксан-диабетических крыс. Инфекция, иммунитет и фармакология. Ташкент. 2012; 2: 25–28.
 14. Юсупова С. М., Вайс Е. В., Зокирова У. Т. и др. Полипренолы листьев Vitis Vinifera S.: выделение и изучение ранозаживляющей активности. Журнал теоретической и клинической медицины. 2019; 4: 26–28.
 15. Лацерус Л. А. Применение терпеноидсодержащего препарата абисил в лечении и профилактике хирургической инфекции. Российский биотерапевтический журнал. 2010; 9 (1): 39–41.
 16. Турсунова Н. В., Клиникова М. Г., Торнуев Ю. В., Лушников Е. Л. Растительные полипренолы как перспективный класс соединений, стимулирующих регенераторные процессы. Современные проблемы науки и образования. 2019; 4. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=28977> (дата обращения: 19.05.2026).
 17. Cavallini G, Sgarbossa A, Parentini I, et al. Dolichol: A component of the cellular antioxidant machinery. Lipids. 2016; 51 (4): 477–86.
 18. Ciepichal E, Jemiola-Rzeminska M, Hertel J, et al. Configuration of polyisoprenoids affects the permeability and thermotropic properties of phospholipid/polyisoprenoid model membranes. Chem Phys Lipids. 2011; 164 (4): 300–6.
 19. Лебедева С. А., Галенко-Ярошевский (мл.) П. А., Мельник С. И. и др. Ранозаживляющее действие металлоорганического комплекса цинка на модели плоскостной кожной раны у крыс. Научные результаты биомедицинских исследований. 2022; 8 (1): 71–81.
 20. Фокина Н. А., Урядова Г. Т., Тяпкин А. Ю. и др. Действие экзополисахаридов молочнокислых бактерий на процесс заживления ожогов у крыс. Ульяновский медико-биологический журнал. 2018; 4: 117–23.
 21. Зинченко И. А., Струц И. С., Миронцев А. В. и др. Изучение ранозаживляющего действия наночастиц серебра и церия при лечении неосложненных кожных ран в эксперименте. Оперативная хирургия и клиническая анатомия (Пироговский научный журнал). 2024; 8 (4): 18–24.

References

1. Sultanova KT, Kryshen KL, Borovkova KE, i dr. Patogenez inficirovannoj ozhogovoj rany u krysa. Laboratornye zhivotnye dlya nauchnyh issledovanij. 2023; 2: 35–42. Russian.
2. Mihalevich EN, Koval'skaya G. N. Obzor sovremennykh lekarstvennykh sredstv dlya naruzhnogo primeneniya, ispol'zuemykh v farmakoterapii ozhogovoj travmy. Voprosy obespecheniya kachestva lekarstvennykh sredstv. 2024; 1: 97–105. Russian.
3. Palmieri TL, Heard J. Biomarkers of sepsis in burn injury: an update. Burns Trauma. 2025; 13: tkae080.
4. Samojlova AV, Gostyuhina AA, Bolshakov MA, Rostov VV. Effekt stimulyatsii zashchivleniya ozhogovykh ran u krysa nanosekundnymi mikrovolnovymi impul'sami. Sovremennye voprosy biomeditsiny. 2022; 6 (1). DOI: 10.51871/2588-0500_2022_06_01_8. Russian.
5. Kochneva EV, Maharoblishvili DV, Kolcova YuE. Znachenie poliprenolov v klinicheskoy i eksperimental'noj praktike. Voprosy dietologii. 2020; 10 (2): 35–43. Russian.
6. Shustov EB, Kashuro VA, Batocyprenova EG. i dr. Poliprenoly kak perspektivnye nefrofarmakologicheskie sredstva. Biomedicina. 2020; 16 (3): 125–9. Russian.
7. Antipina AA, Popov VS, Balaban'yan VYu. Poliprenoly kak original'nyy klass prirodnykh soedinenij, obladayushchih shirokim spektrom farmakologicheskoy aktivnosti. Farmaciya. 2021; 70 (5): 15–21. Russian.
8. Sanin AV, Pronin AV, Narovlyanskij AN, i dr. Fosforilirovannye poliprenoly kak universal'nye agenty podavleniya virusnoj reprodukcii. Uspekhi sovremennoj biologii. 2022; 142 (3): 268–85. Russian.
9. Boateng ID. Polyphenols in Ginkgo biloba; a review of their chemistry (synthesis of polyphenols and their derivatives), extraction, purification, and bioactivities. Food Chem. 2023; 418: 136006.
10. Antipina AA, Popov NS, Baranov MS, i dr. Sravnitel'naya harakteristika kolichestvennogo soderzhaniya poliprenolov v substanciyah, poluchennykh iz Ginkgo biloba L. i Picea abies L. Voprosy biologicheskoy, medicinskoj i farmaceuticheskoy himii. 2024; 27 (8): 13–21. Russian.
11. Buryakina AV, Frolova NYu, Melnikova TI, i dr. Metodicheskie rekomendacii po doklinicheskomu izucheniyu dermatotropnykh lekarstvennykh sredstv. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovanij lekarstvennykh sredstv. Ch. 1. M., 2012: 738–45. Russian.
12. Vajs EV, Tursunova NV, Hushbaktova ZA, Syrov VN. Ob effektivnosti poliprenolov iz Alceae Nudiflora pri ispol'zovanii ih v kachestve protivoozhogovogo sredstva. Prakticheskaya fitoterapiya. 2011; 2: 12–16. Russian.
13. Vajs EV, Tursunova NV, Hushbaktova ZA, Syrov VN. Vliyanie poliprenolov iz Alceae nudiflora i oblepihovogo masla na metabolizm kozhi i process zashchivleniya linejnykh kozhnykh ran u normal'nykh i alloksan-diabeticheskikh krysa. Infekciya, иммунитет i farmakologiya. Tashkent. 2012; 2: 25–28. Russian.
14. Yusupova SM, Vajs EV, Zokirova UT, i dr. Poliprenoly list'ev Vitis Vinifera S.: vydelenie i izuchenie ranozazhivlyayushchej aktivnosti. Zhurnal teoreticheskoy i klinicheskoy mediciny. 2019; 4: 26–28. Russian.
15. Lacerus LA. Primenenie terpenoidsoderzhashchego preparata abisil v lechenii i profilaktike hirurgicheskoy infekcii. Rossijskij bioterapevticheskij zhurnal. 2010; 9 (1): 39–41. Russian.
16. Tursunova NV, Klinnikova MG, Tornuev YuV, Lushnikova EL. Rastitel'nye poliprenoly kak perspektivnyy klass soedinenij, stimuliruyushchih regeneratorynye processy. Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya. 2019; 4. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=28977> (data obrashcheniya: 19.05.2026). Russian.
17. Cavallini G, Sgarbossa A, Parentini I, et al. Dolichol: A component of the cellular antioxidant machinery. Lipids. 2016; 51 (4): 477–86.
18. Ciepichal E, Jemiola-Rzeminska M, Hertel J, et al. Configuration of polyisoprenoids affects the permeability and thermotropic properties of phospholipid/polyisoprenoid model membranes. Chem Phys Lipids. 2011; 164 (4): 300–6.

19. Lebedeva SA, Galenko-YAroshevskij (ml.) PA, Melnik SI, i dr. Ranozazhivlyayushchee dejstvie metalloorganicheskogo kompleksa cinka na modeli ploskostnoj kozhnoj rany u krys. Nauchnye rezul'taty biomedicinskih issledovanij. 2022; 8 (1): 71–81. Russian.
20. Fokina NA, Uryadova GT, Tyapkin AYU, i dr. Dejstvie ekzopolisaharidov molochnokislyh bakterij na process zzhivleniya ozhogov u krys. Ul'yanovskij mediko-biologicheskij zhurnal. 2018; 4: 117–23. Russian.
21. Zinchenko IA, Struc IS, Mironcev AV, i dr. Izuchenie ranozazhivlyayushchego dejstviya nanochastic serebra i ceriya pri lechenii neoslozhnennyh kozhnyh ran v eksperimente. Operativnaya hirurgiya i klinicheskaya anatomiya (Pirogovskij nauchnyj zhurnal). 2024; 8 (4): 18–24. Russian.

ОЦЕНКА БИОСОВМЕСТИМОСТИ РЕЗОРБИРУЕМЫХ ZN-MG СПЛАВОВ *IN VITRO* И *IN VIVO*И. И. Гордиенко¹✉, Д. О. Корнилов¹, С. П. Черный¹, В. М. Симарзина¹, Д. Ю. Распосиенко², А. Е. Слукина¹, М. И. Ивасенко¹, Д. Е. Винокуров², Д. Л. Зорников¹¹ Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия² Институт физики металлов имени М. Н. Михеева, Екатеринбург, Россия

Биорезорбируемые сплавы Zn–Mg рассматривают как альтернативу металлическим фиксаторам, однако данные об их биосовместимости при низком содержании Mg остаются недостаточными. Цель работы — оценить биосовместимость сплавов Zn–Mg с содержанием Mg 0,5–2 мас. % *in vitro* и *in vivo*. Цитотоксичность порошков Zn–0,5Mg и Zn–1Mg (0,15–2,5 мг/мл) оценивали в прямом контакте с клетками SCP-1 (МТТ-тест). *In vivo* цилиндрические импланты четырех составов устанавливали билатерально в метафиз большеберцовой кости кроликам ($n = 4$). На 7-е сутки был выполнен общий анализ крови, через 3 и 10 месяцев — компьютерная томография. При 2,5 мг/мл жизнеспособность клеток составила $12,5 \pm 1,0\%$ (Zn–0,5Mg) и $16,8 \pm 1,6\%$ (Zn–1Mg). При 1,25 мг/мл Zn–1Mg не проявлял токсичности ($101,4 \pm 3,3\%$), тогда как Zn–0,5Mg сохранял цитотоксичность ($51,3 \pm 4,4\%$). Восстановление > 80% наблюдалось при 0,62 мг/мл для Zn–0,5Mg и 0,31 мг/мл для Zn–1Mg. *In vivo* все животные сохраняли нормальную активность; гематологические показатели находились в пределах нормы. Через 3 месяца по данным КТ импланты стабильны, признаков остеолита нет. Плотность кортикальной кости составила $647,3 \pm 5,4$ HU, трабекулярной — $510,5 \pm 6,4$ HU, что сопоставимо с интактной костью. Через 10 месяцев импланты по-прежнему визуализировались. Сплавы Zn–Mg с 0,5–2 мас. % Mg демонстрируют дозозависимую цитотоксичность *in vitro* и удовлетворительную биосовместимость *in vivo* без системных воспалительных реакций и костной резорбции в течение 10 месяцев. Сплав с 1% Mg имеет более благоприятный профиль клеточной выживаемости.

Ключевые слова: биорезорбируемые импланты, Zn–Mg сплав, биосовместимость, МТТ-тест, компьютерная томография

Вклад авторов: И. И. Гордиенко — концепция, руководство этапами исследования, проведение экспериментальных операций, интерпретация результатов, подготовка рукописи; Д. О. Корнилов — концепция, проведение эксперимента *in vitro*, интерпретация результатов, подготовка рукописи; С. П. Черный — проведение экспериментальных операций, инструментальных исследований, интерпретация результатов; В. М. Симарзина — проведение эксперимента *in vitro*, визуализация, подготовка рукописи; Д. Ю. Распосиенко — синтез экспериментальных металлических материалов, проведение структурных исследований, анализ экспериментальных результатов; А. Е. Слукина — проведение экспериментальных операций, анализ литературы, интерпретация результатов, подготовка рукописи; М. И. Ивасенко — проведение экспериментальных операций и инструментальных исследований, интерпретация результатов; Д. Е. Винокуров — синтез экспериментальных металлических материалов, термическая и деформационная обработка материала, подготовка образцов, проведение структурных исследований; Д. Л. Зорников — руководство этапами исследования, анализ, интерпретация результатов.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Екатеринбург (протокол № 4 от 19 апреля 2024 г.).

✉ **Для корреспонденции:** Иван Иванович Гордиенко
ул. Репина, д. 3, г. Екатеринбург, 620028, Россия; ivan-gordienko@mail.ru

Статья получена: 07.05.2026 **Статья принята к печати:** 24.05.2026 **Опубликована онлайн:** 04.06.2026

DOI: 10.24075/vrgmu.2026.026

Авторские права: © 2026 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/>).

EVALUATION OF RESORBABLE ZN-MG ALLOY BIOCOMPATIBILITY *IN VITRO* AND *IN VIVO*Gordienko II¹✉, Kornilov DO¹, Chernyi SP¹, Simarzina VM¹, Rasposienko DY², Slukina AE¹, Ivasenko MI¹, Vinokurov DE², Zornikov DL¹¹ Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russia² Mikheev Institute of Metal Physics, Yekaterinburg, Russia

Bioabsorbable Zn–Mg alloys are considered an alternative to metallic fixators, but data on their biocompatibility at low Mg content remain insufficient. Aim — to evaluate the biocompatibility of Zn–Mg alloys containing 0.5–2 wt. % Mg *in vitro* and *in vivo*. Cytotoxicity of Zn–0.5Mg and Zn–1Mg powders (0.15–2.5 mg/mL) was assessed in direct contact with SCP-1 cells (MTT assay). *In vivo*, cylindrical implants of four compositions were placed bilaterally into the tibial metaphysis of rabbits ($n = 4$). Complete blood count was performed on day 7; computed tomography (CT) was performed at 3 and 10 months. At 2.5 mg/mL, cell viability was $12.5 \pm 1.0\%$ (Zn–0.5Mg) and $16.8 \pm 1.6\%$ (Zn–1Mg). At 1.25 mg/mL, Zn–1Mg showed no toxicity ($101.4 \pm 3.3\%$), whereas Zn–0.5Mg remained cytotoxic ($51.3 \pm 4.4\%$). Recovery to > 80% viability was observed at 0.62 mg/mL for Zn–0.5Mg and 0.31 mg/mL for Zn–1Mg. *In vivo*, all animals maintained normal activity; haematological parameters were within normal range. At 3 months, CT showed stable implants without signs of osteolysis. Cortical bone density was 647.3 ± 5.4 HU, trabecular bone density was 510.5 ± 6.4 HU, comparable to intact bone. At 10 months, implants remained visible. Zn–Mg alloys with 0.5–2 wt. % Mg exhibit dose-dependent cytotoxicity *in vitro* and satisfactory biocompatibility *in vivo* without systemic inflammatory reactions or bone resorption over 10 months. The alloy with 1% Mg has a more favourable cell viability profile.

Keywords: bioabsorbable implants, Zn–Mg alloy, biocompatibility, MTT assay, computed tomography

Author contribution: Gordienko II — study conception, overall supervision of research stages, performing experimental surgeries, data interpretation, manuscript preparation; Kornilov DO — study conception, performing *in vitro* experiment, data interpretation, manuscript preparation; Chernyi SP — performing experimental surgeries and instrumental studies, data interpretation; Simarzina VM — performing *in vitro* experiment, visualization, manuscript preparation; Rasposienko DY — synthesis of experimental metallic materials, performing structural studies, analysis of experimental results; Slukina AE — performing experimental surgeries, literature analysis, data interpretation, draft manuscript preparation; Ivasenko MI — performing experimental surgeries and instrumental studies, data interpretation; Vinokurov DE — synthesis of experimental metallic materials, thermal and deformation treatment of materials, sample preparation, performing structural studies; Zornikov DL — overall supervision of research stages, data analysis, data interpretation.

Compliance with ethical standards: The study was approved by the Local Ethics Committee of the Ural State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Yekaterinburg (Protocol No. 4 dated April 19, 2024). Informed consent is not applicable because laboratory animals were used.

✉ **Correspondence should be addressed:** Ivan I. Gordienko
Repina, 3, Yekaterinburg, 620028, Russia; ivan-gordienko@mail.ru

Received: 07.05.2026 **Accepted:** 24.05.2026 **Published online:** 04.06.2026

DOI: 10.24075/brsmu.2026.026

Copyright: © 2026 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 последние десятилетия биорезорбируемые импланты рассматривают как перспективную альтернативу традиционным металлическим фиксаторам в травматологии и ортопедии [1–3]. Ключевой характеристикой таких имплантов является способность к контролируемой деградации *in vivo*. Это позволяет исключить необходимость повторного хирургического вмешательства для удаления фиксирующей конструкции, которое сопряжено с дополнительной травматизацией тканей, риском инфекционных осложнений и увеличением стоимости лечения [3, 4]. Данное клиническое преимущество обусловило интенсивное изучение как полимерных, так и металлических материалов с заданными параметрами биodeградации.

Идеальный биорезорбируемый имплант должен обладать механическими характеристиками, сопоставимыми с костной тканью человека, включая близкий модуль упругости, достаточную прочность и пластичность. Скорость деградации материала должна соответствовать темпам восстановления механической прочности костной ткани в зоне перелома [3]. Существенными требованиями также являются высокая биосовместимость, отсутствие токсических и канцерогенных эффектов, а также предсказуемый характер продуктов деградации [1, 3].

Полимерные импланты, преимущественно на основе PLA (Polylactic acid) и PGA (Polyglycolic acid), уже применяются в клинической практике, однако их использование ограничено относительно низкой механической прочностью [4]. Кроме того, резорбция полимеров сопровождается образованием кислых продуктов гидролиза, что может приводить к локальному асептическому воспалению [5]. В отличие от них, металлические биорезорбируемые импланты характеризуются значительно более высокими прочностными показателями, предсказуемым механизмом электрохимической коррозии и отсутствием выраженного локального ацидоза в зоне имплантации [6, 7]. Эти свойства определяют их потенциальную применимость для остеосинтеза переломов крупных опорных костей в условиях повышенной механической нагрузки.

Среди металлов, рассматриваемых для разработки биорезорбируемых имплантов, наибольшее внимание уделяется магнию (Mg), железу (Fe) и цинку (Zn) [8, 9]. Магниево-цинковые сплавы демонстрируют высокую биосовместимость и модуль упругости, близкий к костной ткани, однако их ключевым недостатком является чрезмерно высокая скорость коррозии в физиологических условиях, сопровождающаяся выделением водорода и преждевременной потерей механической прочности [10, 11]. Fe, напротив, несмотря на удовлетворительные механические свойства, характеризуется крайне медленной деградацией *in vivo*, что ограничивает его клиническую применимость [9, 12]. В этом контексте Zn рассматривают как материал с оптимальным балансом между скоростью резорбции и механической стабильностью, что делает его перспективной основой для создания имплантов с контролируемой кинетикой деградации [13].

Помимо благоприятных коррозионных свойств, Zn является эссенциальным микроэлементом, участвующим в регуляции остеогенеза, активности щелочной фосфатазы и экспрессии факторов роста. Исследования *in vivo* продемонстрировали, что импланты на основе Zn подвергаются равномерной коррозии со скоростью порядка 0,17–0,22 мм/год, что соответствует срокам костной репарации [14]. Однако чистый Zn обладает относительно невысокой механической прочностью

(предел при растяжении около 100–150 МПа), что ограничивает его использование в условиях значительной нагрузки [13].

Один из наиболее эффективных путей повышения прочности Zn — легирование различными металлами. Бинарные Zn–Mg-сплавы привлекают внимание как потенциальные материалы для биорезорбируемых имплантов благодаря сочетанию механической стабильности и умеренной скорости биodeградации [13, 15]. Добавление Mg способствует формированию интерметаллических фаз (Mg_2Zn_{11} , $MgZn_2$), которые обеспечивают упрочнение структуры сплава. Предел прочности при растяжении Zn–Mg-сплавов может достигать 260–498 МПа в зависимости от содержания Mg и способа обработки [16, 17]. При этом скорость коррозии умеренно увеличивается по сравнению с чистым Zn, оставаясь в пределах, совместимых с физиологическими процессами регенерации кости [16]. Некоторые авторы сообщают, что добавление Mg увеличивает биосовместимость сплавов в сравнении с чистым цинком [18]. Данные по цитотоксичности бинарных сплавов Zn–Mg противоречивы и зависят от величины доли Mg в сплаве [15, 19]. Избыточное количество Mg в составе сплава может, напротив, ухудшать механические свойства и чрезмерно ускорять процессы коррозии [19].

Таким образом, несмотря на значительное количество исследований, посвященных Zn–Mg сплавам, данные о влиянии низких концентраций Mg (0,5–2 мас.%) на цитотоксичность, скорость деградации и тканевый ответ остаются частично противоречивыми, а комплексные исследования, объединяющие *in vitro* и *in vivo* анализ для данного диапазона концентраций, немногочисленны, что ограничивает возможность оптимизации состава сплавов для клинического применения.

Цель настоящего исследования — комплексная оценка биосовместимости сплавов Zn–Mg с содержанием Mg (0,5–2 мас.%), включающая анализ цитотоксичности на клеточных культурах SCP *in vitro* и изучение биологического ответа на имплантацию материала *in vivo*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для достижения поставленной цели исследование выполняли в два последовательных этапа. На первом этапе проводили скрининговую оценку цитотоксичности *in vitro* с использованием порошков исследуемых сплавов. Порошковая форма выбрана для стандартизированного МТТ-теста в прямом контакте. Он позволяет определить пороговые концентрации, вызывающие гибель клеток, в условиях максимальной площади поверхности материала (стресс-тест). На втором этапе оценивали биосовместимость *in vivo* на компактных цилиндрических имплантах, форма которых соответствует потенциальному клиническому применению в качестве фиксаторов для остеосинтеза. Прямое количественное сопоставление абсолютных значений жизнеспособности клеток *in vitro* и скорости деградации имплантов *in vivo* не проводили ввиду различий в морфологии образцов.

Исследуемые материалы

В качестве исходных материалов использовали Zn Ц0 (ГОСТ 3640-79) и Mg Мг90 (ГОСТ 804-72). Выплавку образцов осуществляли по двум экспериментальным режимам. Запаянная в кварцевую ампулу навеска

заданного состава нагревалась до 440 °С (эта температура на 20 °С выше температуры плавления Zn), выдерживали в течение 10 ч и резко закаливали в воде.

В дальнейшем все исследования проводили с использованием сплавов в литом состоянии. Материалы характеризовались крупнозернистой микроструктурой, преимущественно состоящей из зерен твердого раствора на основе Zn. В сплавах с содержанием Mg более 1,5% по межкусталлитным границам также была обнаружена в виде тонких прослоек выродившаяся эвтектика ((Zn) + Mg₂Zn), объемная доля которой не превышала 5%. Увеличение содержания Mg в составе приводило к уменьшению среднего размера зерен с 400 до 195, 160, 120 мкм.

Порошок необходимого гранулометрического состава получали диспергированием в планетарной шаровой мельнице РМ 100 (Retsch GmbH, Германия). Первоначально с целью получения металлической стружки отлитые слитки обрабатывали на фрезерном станке. В дальнейшем помол стружки проводили при помощи агатовых мелющих шаров в агатовой ступке объемом 200 мл при вращении 300 об./мин в течение 5 ч в среде гептана для предотвращения слипания частиц. Использование агатовых шаров было обусловлено необходимостью предотвратить загрязнение готового порошка железом, частицы которого могут обнаруживаться на поверхности порошка после помола стандартными стальными мелющими шарами.

Отношение массы загружаемой стружки сплава к массе мелющих шаров составило 1/2. Масса мелющих шаров составляла 60 г, соответственно каждый раз получали порции порошка по 30 г. После обработки для устранения грубых частиц полученный в шаровой мельнице порошок просеивали через сито с размером ячейки 100 мкм. Просеянный порошок тщательно промывали в ультразвуковой ванне с этиловым спиртом, после чего полученную суспензию пропускали через фильтровальную бумагу. Оставшийся на бумаге готовый порошок подвергался сушке в течение 24 ч в вентилируемом вытяжном шкафу.

Аттестацию гранулометрического состава готового порошка проводили с помощью оптического микроскопа Neophot 32 (Carl Zeiss, Германия) и сканирующего электронного микроскопа TESCAN MIRA 2 (TESCAN, Brno, Чехия), оборудованного системой энергодисперсионного рентгеновского спектрального анализа (Oxford Instruments, Великобритания). В результате проведенного анализа было установлено, что для гранул порошка характерна неправильная форма в виде чешуек, средний размер которых в случае Zn–0,5Mg составлял 50 мкм, Zn–1Mg — 65 мкм, Zn–1,5Mg — 96 мкм, Zn–2Mg — 89 мкм. Доля частиц с минимальным диаметром менее 20 мкм во всех образцах не превышала 5%.

Для проведения исследований *in vivo* из исходных слитков с помощью электроэрозионного станка были вырезаны заготовки в виде цилиндров диаметром 1,5 мм и высотой 8 мм. В дальнейшем для устранения окислов и получения требуемого качества поверхность образцов обрабатывали механической шлифовкой на наждачной бумаге зернистостью 240, 400 и 800.

Цитотоксичность *in vitro*

Клеточная линия и условия культивирования

Для оценки цитотоксичности использовали иммортализованные костномозговые стволовые клетки человека линии SCP-1,

обладающие стабильной адгезией на металлических поверхностях. Клетки культивировали во флаконах T-25 (Sarstedt, Германия) с адгезивным покрытием в среде с содержанием LoSera basal medium (HiMedia, Индия) 88%, FBS (HiMedia, Индия) 10%, L-глутамина (ServiceBio, China) 0,01%, раствора пенициллина, стрептомицина и амфотерицина В (CDH, Индия) 0,01%, в CO₂-инкубаторе (Panasonic (Sanyo) MCO-15A, Япония) с концентрацией CO₂ 5%, при температуре 37 °С.

При достижении 90–100% конfluence выполняли пассирование: удаляли использованную среду, промывали клетки сбалансированным солевым раствором Хэнкса (HBSS, ServiceBio, Китай) без ионов Ca²⁺ и Mg²⁺ дважды, затем добавляли 0,25%-й раствор трипсина с ЭДТА (2,5 мл) (ServiceBio, Китай). Экспозиция трипсина составила 10 с, затем флакон помещали в CO₂-инкубатор на 1 мин 30 с. После этого клетки ресуспендировали в 10 мл свежей среды. С помощью светового инвертированного микроскопа (Nexcore NIB620FL, Китай) контролировали отделение клеток от подлежащей поверхности. Клеточную суспензию отбирали в пробирку и центрифугировали со скоростью 1600 об./мин 3 мин. Надосадочную жидкость удаляли. Осадок ресуспендировали в 15 мл среды и перенесли по 5 мл в три новых флакона (трехкратное разбавление).

Клеточную суспензию вносили в 96-луночный планшет (Sarstedt, Германия) в концентрации 525 000 кл./мл и культивировали 24 ч перед добавлением исследуемого материала.

Подготовка суспензии металлических порошков

Цитотоксичность оценивали методом прямого контакта. Использовали порошки сплавов Zn–Mg с содержанием Mg 0,5 и 1 мас.% (группы А и В соответственно). Для порошков с концентрацией Mg 1,5 и 2 мас.% исследование цитотоксичности *in vitro* не проводили, поскольку слишком крупный размер частиц не позволял произвести дозирование металлического порошка.

Порошки стерилизовали автоклавированием при 121 °С 60 мин и охлаждали до комнатной температуры в стерильных условиях. В пробирках объемом 1,5 мл типа эппендорф готовили взвесь на основе культуральной среды, указанной выше, со стократной концентрацией исследуемых порошков 10 мг/мл, которую после тщательного встряхивания на микроцентрифуге-вортексе двукратными разведениями разбавляли до рабочих концентраций 2,5, 1,25, 0,62, 0,31 и 0,15 мг/мл.

Из лунок с клеточной культурой удаляли культуральную среду и добавляли в 72 лунки приготовленные взвеси исследуемых материалов, в соответствии с приведенной схемой (рис. 1). Объем суспензии, вносимой в каждую лунку, составлял 100 мкл.

Суспензии порошков в концентрациях 2,5–0,15 мг/мл вносили в лунки с клеточной культурой. Верхние три ряда (по 6 лунок планшета) каждой группы содержали опытные образцы и интактный контроль. Четвертый ряд — контроль адсорбции порошка с клетками (без МТТ), пятый — контроль адсорбции порошка с МТТ (без клеток), шестой — контроль адсорбции с DMSO (без клеток). Введение дополнительных контролей позволило исключить ложноположительные реакции, связанные с неспецифическим связыванием частиц порошка с компонентами МТТ-теста, что проявлялось в ранних экспериментах. Время экспозиции — 24 ч.

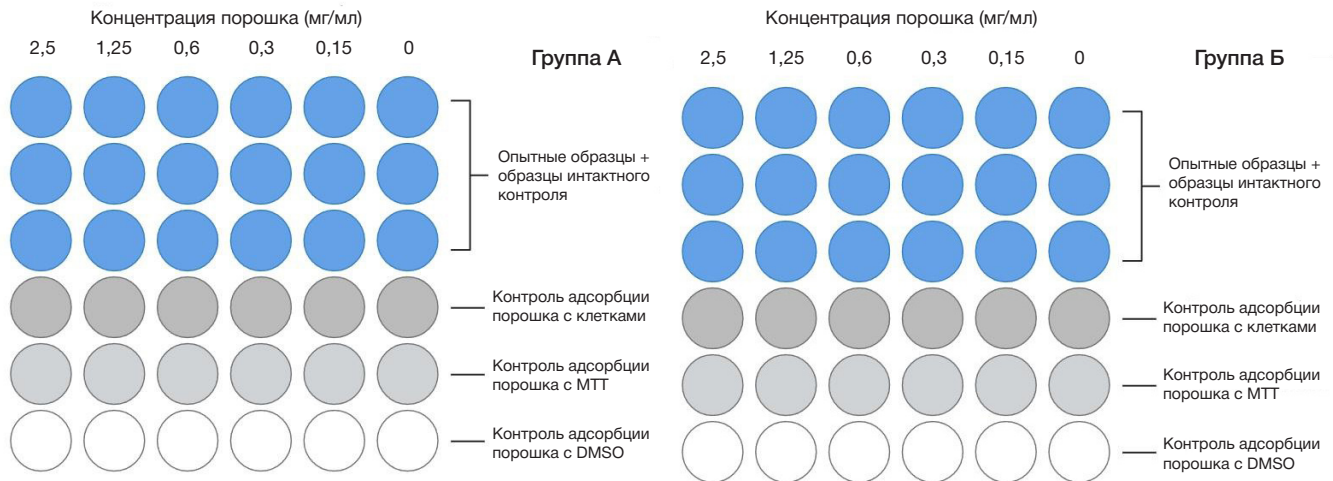


Рис. 1. Схема расположения образцов в исследовании цитотоксичности. Группа А — опытные образцы с содержанием Mg 0,5 мас.%, все виды рабочих концентраций. Группа Б — опытные образцы с содержанием Mg 1 мас.%, все виды рабочих концентраций

Полученные образцы анализировали методом МТТ-теста. Для этого сухой реагент МТТ (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide; ServiceBio, Китай) растворяли в концентрации 5 мг/мл в 1× растворе PBS (Phosphate Buffered Saline, фосфатно-солевой буфер, ServiceBio, Китай). Затем 1 мл стокового раствора МТТ (5 мг/мл) смешивали с 9 мл культуральной среды (рабочая концентрация МТТ — 0,5 мг/мл). После 24 ч экспозиции с исследуемыми металлическими порошками из всех лунок аккуратно удаляли среду с помощью вакуумного аспиратора и добавляли в каждую лунку по 100 мкл рабочего раствора МТТ (0,5 мг/мл). Инкубировали 2,5 ч в CO₂-инкубаторе. С помощью вакуумного аспиратора удаляли раствор и добавляли по 100 мкл DMSO (ServiceBio, Китай). Инкубировали 15 мин на радиальном шейкере (100 об./мин).

Исследовали в микропланшетном ридере (Alsheng AMP-100, Китай) оптическую плотность каждого образца на длине волны 540 нм (референтная длина волны — 750 нм). Жизнеспособность вычисляли по формуле $%Vi = (100 \times ODe)/ODb$, где ODe — значение оптической плотности исследуемых образцов, ODb — среднее значение оптической плотности отрицательных контролей. За отрицательный контроль принимали интактные клетки, культивируемые в тех же условиях, но без добавления металлического порошка. Дополнительные контроли (контроль адсорбции порошка с клетками без МТТ, контроль адсорбции порошка с МТТ без клеток, контроль адсорбции с DMSO без клеток) использовали для выявления неспецифического связывания компонентов МТТ-теста с частицами порошка. Если в каком-либо из дополнительных контролей регистрировали оптическую плотность, превышающую 5% от значений отрицательного контроля, соответствующую концентрацию порошка исключали из анализа как дающую ложноположительный результат. Во всех представленных в работе случаях значения дополнительных контролей не превышали указанного порога. Все измерения выполняли в трех технических повторностях [20].

Исследование *in vivo*

Экспериментальное исследование проводили на базе вивария ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России с использованием четырех половозрелых самцов кроликов породы Советская шиншилла. В исследование включали клинически здоровых животных в возрасте 6–9 месяцев,

массой тела 2,0–3,5 кг, прошедших карантинизацию и ветеринарный осмотр с подтверждением нормальных клинико-лабораторных показателей. Содержание животных осуществляли в соответствии с требованиями ГОСТ 33216-2014 и рекомендациями FELASA.

Размер выборки ($n = 4$) обусловлен пилотным характером исследования и был минимально достаточным для оценки локальных и системных реакций на имплант у конкретного организма. С целью увеличения количества экспериментальных точек импланты устанавливали билатерально (в правую и левую нижние конечности одного и того же кролика).

В качестве исследуемых образцов использовали Zn–Mg-импланты с процентным содержанием Mg 0,5, 1, 1,5 и 2 мас.%, цилиндрической формы, диаметром 1,5 мм и высотой 8 мм. Перед применением импланты стерилизовали в сухожаровом шкафу при температуре 180 ° в течение 60 мин.

Оперативное вмешательство

Операции выполняли под общей анестезией, индуцированной внутримышечным введением препарата Zoletil 100 (производитель Virbac Sante Animale) в дозе 10 мг/кг. Во время вмешательства осуществляли мониторинг частоты дыхания и сердцебиения. Животное фиксировали на операционном столе в положении на боку (со стороны вмешательства). С нижних конечностей животных предварительно удаляли шерстяной покров с помощью электротриммера, затем последовательно обрабатывали область вмешательства 70%-м этанолом и раствором повидон-йода (ЗАО «Эгис Фармацевтический завод», Россия).

По медиальной поверхности в проекции проксимального метафиза большеберцовой кости выполняли продольный кожный разрез длиной 3–4 см. После послыонного рассечения мягких тканей визуализировали проксимальный метафиз. На медиальной поверхности метафиза на расстоянии 6–8 мм от суставной щели гравером со стерильным цилиндрическим бором диаметром 1 мм формировали кортикально-губчатый дефект диаметром 1,5 мм, глубиной до противоположного кортикального слоя. Сверление осуществляли под постоянным охлаждением стерильным физиологическим раствором для предотвращения термического повреждения костной ткани. Имплант погружали в сформированный дефект до упора в противоположный кортикальный слой кости. Во всех



Рис. 2. Этапы оперативного вмешательства. Погружение импланта в сформированный костный дефект. **А.** Формирование трепанационного отверстия в проксимальном метафизе большеберцовой кости экспериментальных животных. **Б.** Процесс имплантации пина на основе сплава цинка в сформированное трепанационное отверстие. **В.** Имплантированный пин, плотно помещенный в сформированное трепанационное отверстие (окончательный вид)

случаях была достигнута плотная механическая фиксация импланта (рис. 2).

После установки импланта рану ушивали послойно отдельными узловыми швами, фасцию — нитью Vicryl 4-0 («Медин-Н», Россия), кожу — Prolene 3-0 («Медин-Н», Россия). Линию шва обрабатывали раствором окситетрациклина. Имобилизацию оперированной конечности не выполняли. Аналогичное вмешательство проводили с контралатеральной стороны в рамках единой процедуры.

После операции животных обезболивали кетопрофеном (производитель VIC) (1 мг/кг внутримышечно, 1 раз в сутки в течение 3–4 дней). Эффективность обезболивания контролировали с использованием шкалы Rabbit Grimace Scale. Для профилактики инфекционных осложнений применяли энрофлоксацин (КРКА, Словения) в дозе 5 мг/кг внутримышечно в течение 3 дней. В течение всего периода наблюдения ежедневно контролировали общее состояние животных, поведение, аппетит и состояние послеоперационной раны.

Гематологический анализ

На седьмые сутки после операции осуществляли забор крови из краевой ушной вены для проведения

общего анализа крови (ОАК). Кровь исследовали с использованием автоматического гематологического анализатора Mythic 5Vet PRO (Orphée S.A., Швейцария). Определяли содержание эритроцитов (RBC), уровень гемоглобина (HGB), количество лейкоцитов (WBC), а также оценивали лейкоцитарную формулу (GRA%, MID%, LYM%). Интерпретацию результатов проводили с учетом референтных значений для данного вида животных.

Компьютерная томография

Компьютерную томографию (КТ) выполняли через 3 и 10 месяцев после имплантации с использованием 64-срезового томографа Philips Tomoscan AV (Philips Healthcare, Нидерланды), толщина среза — 0,6 мм.

Полученные изображения анализировали с использованием программного обеспечения RadiAnt DICOM Viewer (Medixant, Польша). В ходе анализа оценивали наличие газовых или жидкостных скоплений в периимплантной зоне, признаки воспалительных изменений мягких тканей, а также участки костной деструкции.

Плотность костной ткани оценивали в единицах Хаунсфилда (Hounsfield Units, Венгрия). Для количественного анализа измеряли: плотность кортикальной кости (Cortical

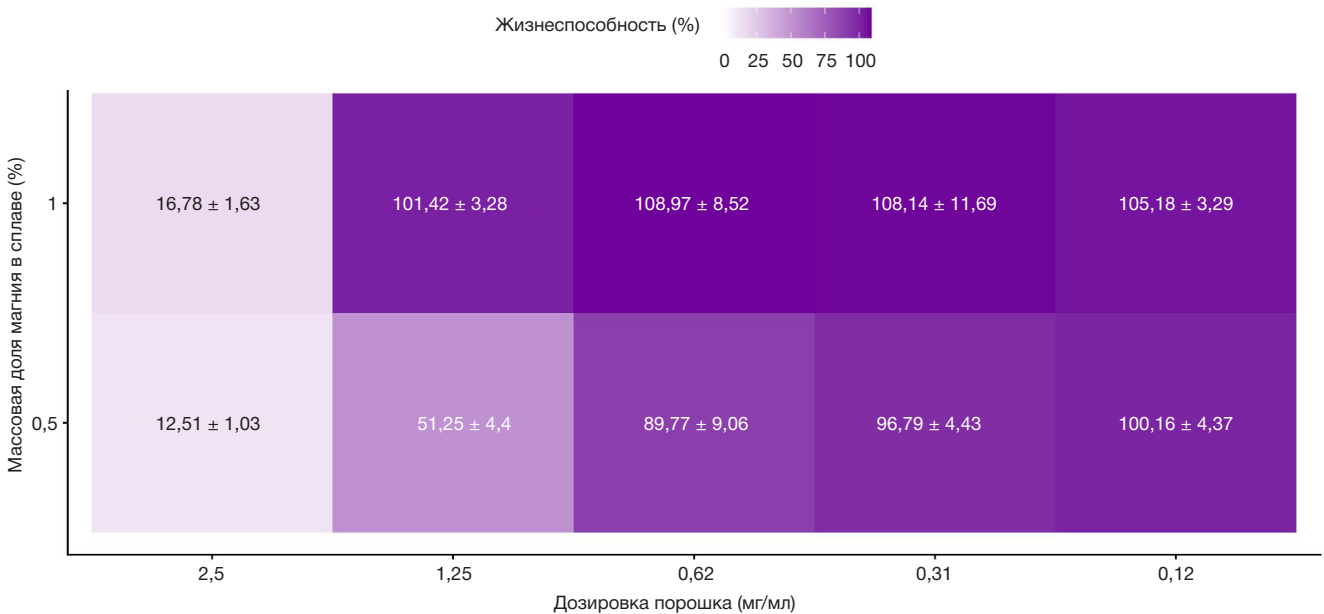


Рис. 3. Тепловая карта распределения жизнеспособности костномозговых стволовых клеток SCP-1 при воздействии порошков биорезорбируемых сплавов с разным содержанием Mg. Цветовая шкала отражает уровень жизнеспособности: холодные цвета — низкая жизнеспособность, теплые цвета — высокая жизнеспособность клеток

Таблица 1. Гематологические показатели животных на 7-е сутки после операции

Показатель	Zn-0,5Mg	Zn-1Mg	Zn-1,5Mg	Zn-2Mg	Референсные значения*
WBC ($10^9/л$)	5,3	8,47	9,79	7,89	5,0–12,0
LYM% (%)	44,42	45,58	52,73	48,46	30–75
LYM# ($10^9/л$)	2,314	3,86	5,162	3,013	2,0–8,0
MON% (%)	10,35	13,12	11,79	13,22	2–10
MON# ($10^9/л$)	0,866	1,111	1,154	1,043	0,1–0,9
NEU% (%)	38,41	40,52	34,4	37,96	20–60
NEU# ($10^9/л$)	2,037	3,434	3,369	2,996	1,0–5,5
EOS% (%)	0,8	0,76	0,92	0,32	0–7
EOS# ($10^9/л$)	0,042	0,064	0,09	0,025	0,1–0,5
BASO% (%)	0,02	0,02	0,16	0,04	0–3
BASO# ($10^9/л$)	0,001	0,001	0,015	0,003	0,1–0,5
RBC ($10^{12}/л$)	6,18	7,09 (H)	6,88 (H)	6,23	4,5–7,0
HGB (г/л)	148 (H)	157 (H)	157 (H)	141 (H)	100–140

Примечание: * — приводятся референсные значения для кроликов [21]; H — повышение показателя.

Bone Density, CBD) вентрально и дорсально относительно импланта, а также плотность трабекулярной кости (Trabecular Bone Density, TBD) в перимплантной зоне.

Статистическая обработка данных

Для обработки количественных данных использовали программный пакет Microsoft Office Excel 2020 (Microsoft, США). Количественные показатели описывали с помощью средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD). Предварительный расчет объема выборки не делали. Сравнение групп с применением статистических критериев не проводили ввиду малого объема выборки. Построение графиков выполняли в среде R, версия 4.5.2 (R Foundation for Statistical Computing, Австрия).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование цитотоксичности

Анализ цитотоксичности металлических порошков биорезорбируемых сплавов Zn–Mg в отношении костномозговых стволовых клеток человека линии SCP-1 выявил дозозависимое снижение жизнеспособности клеток (рис. 3).

При максимальной исследованной концентрации 2,5 мг/мл оба типа сплавов продемонстрировали выраженную цитотоксичность. Жизнеспособность клеток составила $12,51 \pm 1,03\%$ для сплава с содержанием магния 0,5% и $16,78 \pm 1,63\%$ для сплава с содержанием магния 1%. При снижении концентрации до 1,25 мг/мл сплав с 0,5% магния сохранял умеренную цитотоксичность (жизнеспособность $51,25 \pm 4,4\%$), тогда как сплав с 1% магния не проявлял токсического действия ($101,42 \pm 3,28\%$).

Концентрации 0,62 мг/мл и ниже для сплава с 1% магния характеризовались жизнеспособностью клеток на уровне контроля или выше: $108,97 \pm 8,52\%$ при 0,62 мг/мл, $108,14 \pm 11,69\%$ при 0,31 мг/мл и $105,18 \pm 3,29\%$ при 0,12 мг/мл. Для сплава с 0,5% магния восстановление жизнеспособности до приемлемых значений ($> 80\%$) наблюдалось начиная с концентрации 0,62 мг/мл ($89,77 \pm 9,06\%$), с дальнейшим увеличением до $96,79 \pm 4,43\%$ и $100,16 \pm 4,37\%$ при концентрациях 0,31 и 0,12 мг/мл соответственно.

Исследование *in vivo*

В течение всего послеоперационного периода общее состояние животных оставалось удовлетворительным. Все кролики сохраняли нормальную двигательную

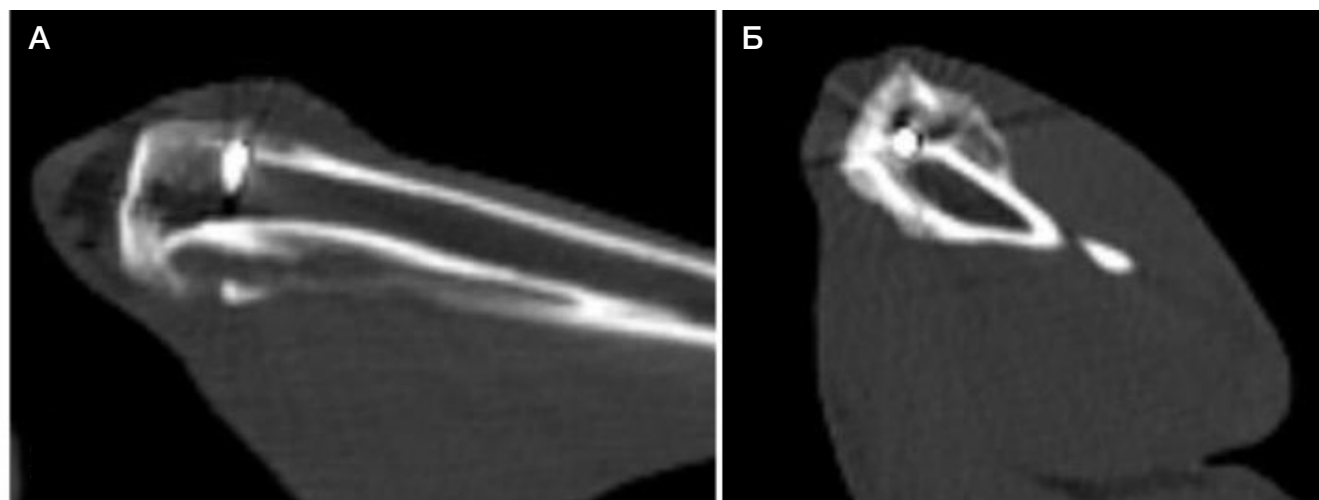


Рис. 4. Результаты КТ спустя 3 месяца после операции. Имплант определяется в области метафиза большеберцовой кости. А. Сагиттальный срез с захватом диафиза. Б. Сагиттальный срез с захватом эпифиза

Таблица 2. Показатели плотности кортикального (CBD) и трабекулярного (TBD) компонентов костной ткани в перимплантной зоне спустя 3 месяца после оперативного вмешательства

Образец	CBD, HU				TBD, HU			
	Справа	Слева	М	Норма	Справа	Слева	М	Норма
0,50%	654	656	655	655	505	505	505	510
1%	643	642	642,5		504	506	505	
1,50%	644	646	645		518	516	517	
2%	646	647	646,5		513	517	515	
Групповой показатель (n = 4) M (SD)	647,25 (5,42)				510,5 (6,40)			

активность, аппетит и физиологическую температуру тела. Клинических признаков воспаления или инфицирования раны, а также нарушений функции нижних конечностей не было выявлено.

Гематологические показатели

На 7-е сутки после операции были определены основные гематологические показатели — количество эритроцитов (RBC), концентрация гемоглобина (HGB), общий уровень лейкоцитов (WBC) и лейкоцитарная формула (табл. 1)

WBC находились в пределах референсного диапазона ($5,0\text{--}12,0 \times 10^9/\text{л}$). Относительные и абсолютные значения лимфоцитов (LYM) и нейтрофилов (NEU) соответствовали физиологической норме, относительное содержание моноцитов (MON) незначительно превышало верхнюю границу референсов и составляло 10,35–13,22%. Показатели EOS и BASO также находились в пределах референсных значений. Показатель RBC варьировал от 6,18 до $7,09 \times 10^{12}/\text{л}$, а HGB — от 141 до 157 г/л, что незначительно превышает верхнюю границу референсного диапазона.

Компьютерная томография

КТ, выполненная через 3 месяца после имплантации, показала сохранение положения всех имплантов без признаков миграции, что свидетельствует о стабильной механической фиксации и интеграции в костную ткань (рис. 4).

Анализ плотности костной ткани по данным КТ с использованием RadiAnt DICOM Viewer показал высокую однородность показателей кортикального (CBD) и трабекулярного (TBD) компонентов у всех животных (табл. 2).

Исследованию подверглись восемь опытных образцов, всего четыре типа импланта с разным процентным содержанием магния от 0,5 до 2% с шагом 0,5%. Средние значения кортикальной плотности варьировались от 642,5 до 655 HU (Hounsfield Units, единицы Хаунсфилда) в зависимости от концентрации Mg в импланте, а трабекулярная плотность — от 505 до 517 HU. Групповое среднее значение для всех образцов составило $647,25 \pm 5,42$ HU для CBD и $510,5 \pm 6,40$ HU для TBD. Нормальное значение плотности здоровой кости у кроликов составляет в среднем 655 HU в случае кортикальной плотности кости, 510 HU — в случае трабекулярной плотности.

По данным КТ спустя 10 месяцев после операции имплант определяется в месте первоначальной установки. При анализе содержания газа в перимплантной зоне отмечается незначительное его выделение, без

распространения в костномозговой канал большеберцовой кости лабораторного животного.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Впервые о перспективах применения бинарного сплава Zn–Mg в качестве биоразлагаемого материала в медицине появилось сообщение в 2011 г. [22]. Авторы выяснили, что скорость деградации сплавов Zn–Mg *in vitro* составляла порядка десятков микрон в год, что может быть достаточным для восстановления механической прочности костной ткани в области повреждения. В дальнейшем было установлено, что легирование цинка магнием приводит к формированию интерметаллических фаз (прежде всего $\text{Mg}_2\text{Zn}_{11}$ и MgZn_2), обеспечивающих существенное повышение прочностных характеристик за счет дисперсионного упрочнения, при этом сохраняющих модуль упругости, близкий к костной ткани [16]. Кроме того, импланты, изготовленные из бинарных сплавов Zn, демонстрируют лучшую остеоинтеграцию, чем чистый Zn, что может быть связано со стимулирующим действием ионов Mg на остеогенез [15].

Полученные в нашем исследовании результаты свидетельствуют о дозозависимом характере цитотоксичности исследуемых Zn–Mg сплавов и подтверждают их удовлетворительный профиль биосовместимости при концентрациях 1,25 мг/мл для 1 мас.% и 0,62 мг/мл для 0,5 мас.%. Наиболее существенное снижение жизнеспособности клеток (до 12,5–16,8%) наблюдалось при максимальной концентрации порошков (2,5 мг/мл), тогда как при разбавлении среды она восстанавливается до значений, сопоставимых или превышающих контроль (до 109,0%). Данный профиль ответа указывает на влияние локальной концентрации высвобождаемых ионов металлов как основного фактора, определяющего клеточную выживаемость [8, 16].

Было продемонстрировано, что при концентрации 0,31 мг/мл для сплава Zn–5Mg жизнеспособность эндотелиальных клеток превышала 100%, тогда как для чистого Zn при тех же условиях составляла около 85% [15]. В другом исследовании зафиксировано снижение жизнеспособности клеток до 50% при концентрации 0,75 мг/мл сплава Zn–3Mg, однако при более низких концентрациях выживаемость клеток постепенно увеличивалась [23]. Аналогично сообщалось о > 70% жизнеспособности клеток линий HOS и MG-63 70% при воздействии разбавленных экстрактов сплава Zn–1,2Mg [24].

Необходимо учитывать, что в большинстве представленных работ цитотоксичность оценивали методом экстрактов, что может приводить к снижению пиковых концентраций ионов и, соответственно, к более высоким

показателям жизнеспособности клеток [15]. Используемая в настоящей работе модель прямого контакта потенциально более приближена к условиям локального взаимодействия материала с клетками, а применение расширенной системы контролей позволило повысить достоверность оценки цитотоксичности и частично исключить влияние неспецифической адсорбции порошков на результаты МТТ-теста, что ранее отмечалось как одна из проблем *in vitro* оценки металлических биоматериалов [25].

Несмотря на отсутствие в настоящем исследовании прямых электрохимических измерений и количественной оценки кинетики высвобождения ионов, обсуждение возможных механизмов наблюдаемой цитотоксичности представляется необходимым. Согласно данным литературы, ионы Zn^{2+} в концентрациях, сопоставимых с использованными в нашей работе при максимальных концентрациях порошка (2,5 мг/мл и, для сплава Zn–0,5Mg, при 1,25 мг/мл), индуцируют апоптоз в клетках костного происхождения преимущественно через митохондриальный путь. Показано, что воздействие Zn^{2+} в диапазоне 80–160 мкМ приводит к повышению соотношения Вах/Bcl-2, высвобождению цитохрома С из митохондрий, активации каспаз-3 и -9 и, как следствие, к гибели клеток. Дополнительным механизмом является индукция оксидативного стресса: ионы Zn^{2+} способствуют генерации активных форм кислорода, что вызывает повреждение мембранных липидов и ДНК [19]. В нашем исследовании снижение жизнеспособности клеток до 12–17% при 2,5 мг/мл для обоих сплавов хорошо согласуется с этими литературными данными. Интересно, что при 1,25 мг/мл сплав Zn–1Mg не проявлял токсичность (жизнеспособность — 101,4%), тогда как Zn–0,5Mg сохранял цитотоксический эффект (51,3%). Это различие может быть объяснено не только разной скоростью высвобождения ионов Zn^{2+} из-за различной доли интерметаллических фаз Mg_2Zn_{11} (как обсуждалось выше), но и возможным прямым протективным действием ионов Mg^{2+} [19].

В нашем исследовании сплав с содержанием Mg 1 мас. % продемонстрировал более благоприятный профиль биосовместимости по сравнению со сплавом, содержащим 0,5% магния. Критическое различие наблюдалось в диапазоне концентраций 1,25–2,5 мг/мл, в котором сплав с большим содержанием магния показал существенно меньшую цитотоксичность. При концентрациях 0,62 мг/мл и ниже оба сплава демонстрировали сопоставимые показатели жизнеспособности клеток, превышающие 80%-й порог. Этот эффект может быть объяснен увеличением доли интерметаллических фаз (прежде всего Mg_2Zn_{11}) в сплаве Zn–1Mg, что приводит к снижению биодоступности ионов Zn^{2+} и ограничивает их локальные концентрационные пики в клеточной среде [16, 26]. Кроме того, повышение жизнеспособности клеток может также быть обусловлено биопротективным действием ионов Mg^{2+} , а также их влиянием на процессы клеточного метаболизма и регуляции апоптоза [8].

При концентрациях 0,62 мг/мл для Zn–1Mg и 0,12 мг/мл для Zn–0,5Mg сплавы демонстрировали жизнеспособность клеток выше 100% (до $108,97 \pm 8,52\%$), что указывает на возможный стимулирующий эффект субтоксических концентраций высвобождаемых ионов металлов. Аналогичный стимулирующий эффект ионов Zn^{2+} был продемонстрирован в исследованиях *in vitro* на мезенхимных стволовых клетках [19].

Результаты гематологического анализа *in vivo* через 7 суток после имплантации не выявили признаков

системной воспалительной реакции. Показатели WBC ($5,30\text{--}9,79 \times 10^9/\text{л}$) находились в пределах физиологической нормы, что свидетельствует об отсутствии выраженного иммунного ответа и согласуется с данными других авторов, которые также не выявили повышения воспалительных маркеров у животных после имплантации Zn–Mg–Fe сплавов [27]. Стабильность показателей RBC и HGB подтверждает отсутствие клинически значимой кровопотери и гемолитического эффекта, а незначительное превышение верхней границы референтного диапазона может объясняться индивидуальными особенностями гидратационного статуса животных. По результатам другой работы, показатель гемолиза для Zn–1,2Mg сплавов составлял менее 2%, что ниже предельного значения 5%, установленного стандартом ISO 10993-4 [24, 28]. В совокупности эти данные подтверждают, что Zn–Mg-сплавы не вызывают выраженного системного воспалительного и токсического ответа *in vivo*.

Данные КТ через 3 месяца продемонстрировали сохранение положения имплантов и отсутствие признаков миграции, что косвенно подтверждает достаточную остаточную механическую прочность в ранний период после имплантации. Показатели плотности костной ткани (CBD 642,5–655 HU; TBD 505–517 HU) были сопоставимы с интактной костью, что свидетельствует об отсутствии остеолитических изменений. Это согласуется с данными литературы, в частности, с сообщением о статистически значимом увеличении площади новообразованной кости в группе Zn–0,8Mg в сравнении с чистым Zn, а также о повышении костно-имплантационного контакта, что указывает на улучшенную osteoconductive способность материала [24].

Спустя 10 месяцев после имплантации в нашем исследовании имплант по-прежнему определяется в месте первоначальной установки, что согласуется с сообщениями других авторов о стабильном положении импланта на протяжении 120–360 дней после операции, а также об отсутствии признаков инкапсулирования импланта и перимплантной костной деструкции по данным микро-КТ [29]. Факт выделения минимального количества свободного газа в перимплантной области свидетельствует о реакции магния в составе сплава, что является признаком начала процесса резорбции материала в биологической среде организма лабораторного животного.

Ограничения исследования

При интерпретации результатов настоящего исследования необходимо учитывать ряд ограничений, связанных с дизайном эксперимента, методами оценки и различиями между этапами *in vitro* и *in vivo*.

Первое и наиболее важное ограничение касается различия морфологии и физического состояния образцов, использованных на разных этапах работы. Оценка цитотоксичности *in vitro* выполняли на порошках сплавов Zn–0,5Mg и Zn–1Mg со средним размером частиц от 50 до 65 мкм, тогда как *in vivo* имплантировали компактные полированные цилиндрические образцы диаметром 1,5 мм и высотой 8 мм из сплавов с содержанием магния 0,5, 1, 1,5 и 2 мас.%. Порошковая форма обеспечивает значительно большую удельную площадь поверхности по сравнению с компактным имплантом, что приводит к более быстрому и массивному высвобождению ионов Zn^{2+} и Mg^{2+} в культуральную среду. По сути модель прямого контакта с поршковой представляет собой «стресс-тест», выявляющий пороговые концентрации, тогда как компактный имплант

в условиях *in vivo* деградирует с существенно меньшей скоростью. В связи с этим прямое количественное сопоставление абсолютных значений жизнеспособности клеток (в процентах) *in vitro* с какими-либо параметрами тканевого ответа или скорости резорбции *in vivo* не проводилось и было бы методологически некорректным. Данные *in vitro* использовали исключительно для качественного сравнения двух составов между собой и для демонстрации дозозависимого характера цитотоксичности.

Второе ограничение связано с отсутствием в работе прямых измерений концентрации ионов металлов в биологических средах. Мы не определяли содержание Zn^{2+} и Mg^{2+} ни в культуральной среде после инкубации с порошками, ни в крови экспериментальных животных, ни в тканевой жидкости периимплантной зоны. Это не позволяет установить прямую причинно-следственную связь между конкретной концентрацией ионов и наблюдаемым биологическим эффектом, а также разделить вклад прямого цитотоксического действия ионов, осмотических нарушений и возможного изменения pH среды, особенно в условиях прямого контакта с порошком. Кроме того, без данных о кинетике высвобождения ионов невозможно количественно объяснить, почему при концентрации порошка 1,25 мг/мл сплав Zn–1Mg не проявлял токсичности, тогда как Zn–0,5Mg сохранял цитотоксический эффект.

Еще одно важное ограничение связано с отсутствием в работе прямых измерений коррозионной стойкости и количественной оценки скорости деградации. Мы не проводили электрохимических испытаний (потенциодинамическая поляризация, электрохимическая импедансная спектроскопия) в стандартизированных средах, не определяли потерю массы имплантов после эксплантации, не измеряли глубину коррозионного поражения и не анализировали состав продуктов коррозии на поверхности. Без этих данных невозможно количественно связать наблюдаемые биологические эффекты (цитотоксичность *in vitro*, отсутствие остеолита *in vivo*) с фактической скоростью выделения ионов. Кроме того, отсутствие измерений pH в культуральной среде в процессе МТТ-теста не позволяет исключить вклад защелачивания (характерного для магнийсодержащих сплавов) в гибель клеток. Таким образом, мы не можем окончательно установить механизм цитотоксичности —

является он прямым следствием действия ионов Zn^{2+} , результатом изменения pH или комбинацией факторов. В настоящей работе мы ограничиваемся описанием феноменологии (дозозависимое снижение выживаемости) и обсуждением возможных механизмов на основе литературных данных. Будущие исследования должны включать полный набор коррозионных и механических тестов.

Также необходимо отметить, что системные гематологические показатели *in vivo* не позволяют в полной мере оценить локальные воспалительные изменения и клеточную реакцию в области имплантации. Отсутствие данных гистологического анализа периимплантных тканей существенно ограничивает возможность детальной оценки выраженности местного воспалительного ответа, характера клеточной инфильтрации, а также процессов ремоделирования и новообразования костной ткани на микроуровне. Кроме того, в рамках данного исследования не проводили оценку скорости деградации имплантов, что не позволяет количественно связать наблюдаемые биологические эффекты с динамикой разрушения материала.

ВЫВОДЫ

Проведена двухэтапная оценка биосовместимости бинарных сплавов Zn–Mg с содержанием магния 0,5–2 мас.%, включающая скрининговое исследование цитотоксичности на порошках *in vitro* (0,5–1 мас.%) и изучение тканевого ответа на компактные импланты *in vivo* (0,5–2 мас.%). Установлен дозозависимый характер цитотоксичности *in vitro*, при этом повышение содержания Mg ассоциируется с более благоприятным профилем клеточной выживаемости в области повышенных концентраций. В условиях *in vivo* не выявлено признаков системной воспалительной реакции; гематологические показатели оставались в пределах физиологической нормы, а данные КТ свидетельствуют о сохранении стабильной фиксации имплантов и отсутствии выраженных признаков костной резорбции в течение периода наблюдения. В совокупности полученные результаты подтверждают перспективность дальнейшего изучения Zn–Mg сплавов как класса биорезорбируемых материалов.

Литература

- Blackman B, Okunbor S, Sowa AM, McDonnell JM, Ross TD, Rigney B, et al. Bioabsorbable implants are a viable alternative to traditional metallic implants in orthopaedic surgery: a systematic review and meta-analysis. *J Orthop.* 2025; 65: 257–69. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jor.2025.06.005>.
- Wang Z, Lv Z, Cai X, Wang Y, Peng B, Xu H, et al. Sculpting the future of bone: the evolution of absorbable materials in orthopedics. *Adv Mater.* 2026; 38 (9): e10848. Available from: <https://doi.org/10.1002/adma.202510848>.
- Lu Y, Zhang T, Chen K, Canavese F, Huang C, Yang H, et al. Application of biodegradable implants in pediatric orthopedics: shifting from absorbable polymers to biodegradable metals. *Bioact Mater.* 2025; 50: 189–214. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2025.04.001>
- Nudelman H, Molnár T, Józsa G. Biodegradable (PLGA) implants in pediatric trauma: a brief review. *Children (Basel).* 2025; 13 (1): 19. Available from: <https://doi.org/10.3390/children13010019>.
- Huang B, Yang M, Kou Y, Jiang B. Absorbable implants in sport medicine and arthroscopic surgery: a narrative review of recent development. *Bioact Mater.* 2023; 31: 272–83. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2023.08.015>.
- Гордиенко И. И., Цап Н. А., Борисов С. А., Черный С. П., Марченко Е. С., Антониади Ю. В. Возможности применения биорезорбируемых имплантов в остеосинтезе переломов костей конечностей у детей и подростков. *Медицинский вестник Северного Кавказа.* 2024; 19 (1): 82–87. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.14300/mnnc.2024.19020>.
- Shen D, Li Y, Shi J, Zhang T, Nie JJ, Chen D, et al. Biodegradable Zn–Li–Mn alloy to achieve optimal strength and ductility for bone implants. *Acta Biomater.* 2025; 199: 483–99. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2025.04.056>.
- Montufar EB. Bone response to biodegradable metals and in vitro evaluation of the cytocompatibility. *JOM.* 2025; 77: 4473–4492. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11837-025-07353-8>.
- Xia B, Liu Y, Xing Y, Shi Z, Pan X. Biodegradable medical implants: reshaping future medical practice. *Adv Sci (Weinh).* 2025; 12 (35):

- e08014. Available from: <https://doi.org/10.1002/adv.202508014>.
10. Гордиенко И. И., Марченко Е. С., Борисов С. А., Черный С. П., Цап Н. А., Шишелова А. А., и др. Экспериментальное исследование коррозионных и биосовместимых свойств биорезорбируемых имплантатов из сплава Mg-Ca-Zn. Уральский медицинский журнал. 2024; 23 (1): 77–89. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.52420/2071-5943-2024-23-1-77-89>.
 11. Zhang Y, Wang H, Kumazawa T, Ju D. The effect of medical biodegradable magnesium alloy in vivo degradation and bone response in a rat femur model with long-term fixation. *Biomed Mater Eng*. 2023; 34 (5): 413–25. Available from: <https://doi.org/10.3233/BME-222514>.
 12. Al Sakkaf A, Januddi FS, Yusop AHM, Nur H. Challenges in the use of Fe-based materials for bone scaffolds applications: perspective from in vivo biocorrosion. *Mater Today Commun*. 2022; 33: 104564.
 13. Kong L, Heydari Z, Lami GH, Saberi A, Baltatu MS, Vizureanu P. A comprehensive review of the current research status of biodegradable zinc alloys and composites for biomedical applications. *Materials (Basel)*. 2023; 16: 4797. Available from: <https://doi.org/10.3390/ma16134797>.
 14. Yao C, Wang Z, Tay SL, Zhu T, Gao W. Effects of Mg on Zn-Mg alloy. *J Alloys Compd*. 2014; 602: 101–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2014.03.025>.
 15. Yang H, Jia B, Zhang Z, et al. Alloying design of biodegradable zinc as promising bone implants for load-bearing applications. *Nat Commun*. 2020; 11: 401. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-14153-7>.
 16. Kubásek J, Vojtěch D, Jablonská E, Pospíšilová I, Lipov J, Ruml T. Structure and in vitro degradation of biodegradable Zn-Mg alloys. *Mater Sci Eng C*. 2016; 58: 24–35. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.08.015>.
 17. Yang L, Li X, Yang L, Zhu X, Wang M, Song Z, et al. Effect of Mg contents on degradable Zn alloys. *J Funct Biomater*. 2023; 14 (4): 195. Available from: <https://doi.org/10.3390/jfb14040195>.
 18. Tian Y, Xu Y, Pinc J, Fojt J, Hybásek V, Kubásek J, et al. Biodegradable Zn-0.8Mg-0.2Sr alloy with enhanced osteogenesis. *RSC Adv*. 2025; 15: 30071–88. Available from: <https://doi.org/10.1039/d5ra02009c>.
 19. Yu Y, Liu K, Wen Z, Liu W, Zhang L, Su J. Double-edged effects and mechanisms of Zn²⁺ microenvironments on osteogenic activity of BMSCs. *RSC Adv*. 2020; 10: 14915–27. Available from: <https://doi.org/10.1039/d0ra01465f>.
 20. Гребнев Д. Ю., Маклакова И. Ю., Корнилов Д. О., Симарзина В. М., Тряпицын М. А., Казанцев Ю. А., и др. Ингибирование опухолевого роста в клеточной культуре остеосаркомы с помощью микроРНК mir162a. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2023; 67 (1): 48–55. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2023.01.48-55>.
 21. De Blas C, Wiseman J, editors. *The nutrition of the rabbit*. 2nd ed. Cabi Wallingford, UK, 2010.
 22. Vojtěch D, Kubásek J, Serák J, Novák P. Mechanical and corrosion properties of biodegradable Zn alloys. *Acta Biomater*. 2011; 7 (9): 3515–22. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.05.008>.
 23. Murni NS, Dambatta MS, Yeap SK, Froemming GRA, Hermawan H. Cytotoxicity evaluation of Zn-3Mg alloy. *Mater Sci Eng C*. 2015; 49: 560–6. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.01.056>.
 24. Shen C, Liu X, Fan B, Lan P, Zhou F, Li X, et al. Evaluation of Zn-1.2Mg alloy for biodegradable implants. *RSC Adv*. 2016; 6: 86410–9. Available from: <https://doi.org/10.1039/C6RA14300H>.
 25. Thangaraju P, Varthya SB. ISO 10993: biological evaluation of medical devices. In: *Medical device guidelines and regulations handbook*. Cham: Springer; 2022. p. 163–87.
 26. Shi ZZ, Gao XX, Zhang HJ, Liu XF, Li HY, Zhou C, et al. Design of biodegradable Zn alloys and role of second phases. *Bioact Mater*. 2020; 5 (2): 210–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.02.010>.
 27. Shao X, Wang X, Xu F, Dai T, Zhou JG, Liu J, et al. In vivo biocompatibility of Zn-Mg-Fe alloy. *Bioact Mater*. 2022; 7: 154–66. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.05.012>.
 28. Li HF, Xie XH, Zheng YF, Cong Y, Zhou FY, Qiu KJ, et al. Development of biodegradable Zn-1X binary alloys with nutrient alloying elements Mg, Ca and Sr. *Sci Rep*. 2015; 5: 10719. Available from: <https://doi.org/10.1038/srep10719>.
 29. Klíma K, Ulmann D, Bartoš M, Španko M, Dušková J, Vrbová R, et al. In vivo degradation of ZnMgSr alloy in rabbit bones. *Int J Mol Sci*. 2021; 22 (24): 13444. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms222413444>.

References

1. Blackman B, Okunbor S, Sowa AM, McDonnell JM, Ross TD, Rigney B, et al. Bioabsorbable implants are a viable alternative to traditional metallic implants in orthopaedic surgery: a systematic review and meta-analysis. *J Orthop*. 2025; 65: 257–69. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jor.2025.06.005>.
2. Wang Z, Lv Z, Cai X, Wang Y, Peng B, Xu H, et al. Sculpting the future of bone: the evolution of absorbable materials in orthopedics. *Adv Mater*. 2026; 38 (9): e10848. Available from: <https://doi.org/10.1002/adma.202510848>.
3. Lu Y, Zhang T, Chen K, Canavese F, Huang C, Yang H, et al. Application of biodegradable implants in pediatric orthopedics: shifting from absorbable polymers to biodegradable metals. *Bioact Mater*. 2025; 50: 189–214. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2025.04.001>.
4. Nudelman H, Molnár T, Józsa G. Biodegradable (PLGA) implants in pediatric trauma: a brief review. *Children (Basel)*. 2025; 13 (1): 19. Available from: <https://doi.org/10.3390/children13010019>.
5. Huang B, Yang M, Kou Y, Jiang B. Absorbable implants in sport medicine and arthroscopic surgery: a narrative review of recent development. *Bioact Mater*. 2023; 31: 272–83. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2023.08.015>.
6. Gordienko II, Tsap NA, Borisov SA, Cherny S, Marchenko ES, Antoniadis YV. Vozmozhnosti primeneniya biorezorbiruemykh implantov v osteosinteze perelomov kostej konechnostej u detej i podrostkov. *Medicinskij vestnik Severnogo Kavkaza*. 2024; 19 (1): 82–87. Dostupno po ssylke: <https://doi.org/10.14300/mnnc.2024.19020>. Russian.
7. Shen D, Li Y, Shi J, Zhang T, Nie JJ, Chen D, et al. Biodegradable Zn-Li-Mn alloy to achieve optimal strength and ductility for bone implants. *Acta Biomater*. 2025; 199: 483–99. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2025.04.056>.
8. Montufar EB. Bone response to biodegradable metals and in vitro evaluation of the cytocompatibility. *JOM*. 2025; 77: 4473–4492. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11837-025-07353-8>.
9. Xia B, Liu Y, Xing Y, Shi Z, Pan X. Biodegradable medical implants: reshaping future medical practice. *Adv Sci (Weinh)*. 2025; 12 (35): e08014. Available from: <https://doi.org/10.1002/adv.202508014>.
10. Gordienko II, Marchenko ES, Borisov SA, Cherny SP, Tsap NA, Shishelova AA, et al. Eksperimental'noe issledovanie korrozionnykh i biosovmestimyykh svoystv biorezorbiruemykh implantatov iz splava Mg-Ca-Zn. *Ural'skij medicinskij zhurnal*. 2024; 23 (1): 77–89. Dostupno po ssylke: <https://doi.org/10.52420/2071-5943-2024-23-1-77-89>. Russian.
11. Zhang Y, Wang H, Kumazawa T, Ju D. The effect of medical biodegradable magnesium alloy in vivo degradation and bone response in a rat femur model with long-term fixation. *Biomed Mater Eng*. 2023; 34 (5): 413–25. Available from: <https://doi.org/10.3233/BME-222514>.
12. Al Sakkaf A, Januddi FS, Yusop AHM, Nur H. Challenges in the use of Fe-based materials for bone scaffolds applications: perspective from in vivo biocorrosion. *Mater Today Commun*. 2022; 33: 104564.
13. Kong L, Heydari Z, Lami GH, Saberi A, Baltatu MS, Vizureanu P. A comprehensive review of the current research status of biodegradable zinc alloys and composites for biomedical applications. *Materials (Basel)*. 2023; 16: 4797. Available from: <https://doi.org/10.3390/ma16134797>.
14. Yao C, Wang Z, Tay SL, Zhu T, Gao W. Effects of Mg on Zn-Mg alloy. *J Alloys Compd*. 2014; 602: 101–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2014.03.025>.
15. Yang H, Jia B, Zhang Z, et al. Alloying design of biodegradable zinc as promising bone implants for load-bearing applications. *Nat Commun*. 2020; 11: 401. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-14153-7>.

16. Kubásek J, Vojtěch D, Jablonská E, Pospíšilová I, Lipov J, Ruml T. Structure and in vitro degradation of biodegradable Zn-Mg alloys. *Mater Sci Eng C*. 2016; 58: 24–35. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.08.015>.
17. Yang L, Li X, Yang L, Zhu X, Wang M, Song Z, et al. Effect of Mg contents on degradable Zn alloys. *J Funct Biomater*. 2023; 14 (4): 195. Available from: <https://doi.org/10.3390/jfb14040195>.
18. Tian Y, Xu Y, Pinc J, Fojt J, Hybášek V, Kubásek J, et al. Biodegradable Zn-0.8Mg-0.2Sr alloy with enhanced osteogenesis. *RSC Adv*. 2025; 15: 30071–88. Available from: <https://doi.org/10.1039/d5ra02009c>.
19. Yu Y, Liu K, Wen Z, Liu W, Zhang L, Su J. Double-edged effects and mechanisms of Zn²⁺ microenvironments on osteogenic activity of BMSCs. *RSC Adv*. 2020; 10: 14915–27. Available from: <https://doi.org/10.1039/d0ra01465f>.
20. Grebnev DYu, Maklakova IYu, Kornilov DO, Simarzin VM, Tryapicyn MA, Kazancev YU. A., et al. Ingibirovanie opuholevogo rosta v kletochnoj kul'ture osteosarkomy s pomoshch'yu mikroRNK mir162a. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. 2023; 67 (1): 48–55. Dostupno po ssylke: <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2023.01.48-55>. Russian.
21. De Blas C, Wiseman J, editors. *The nutrition of the rabbit*. 2nd ed. Cabi Wallingford, UK, 2010.
22. Vojtěch D, Kubásek J, Serák J, Novák P. Mechanical and corrosion properties of biodegradable Zn alloys. *Acta Biomater*. 2011; 7 (9): 3515–22. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.05.008>.
23. Murni NS, Dambatta MS, Yeap SK, Froemming GRA, Hermawan H. Cytotoxicity evaluation of Zn-3Mg alloy. *Mater Sci Eng C*. 2015; 49: 560–6. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.01.056>.
24. Shen C, Liu X, Fan B, Lan P, Zhou F, Li X, et al. Evaluation of Zn–1.2Mg alloy for biodegradable implants. *RSC Adv*. 2016; 6: 86410–9. Available from: <https://doi.org/10.1039/C6RA14300H>.
25. Thangaraju P, Varthya SB. ISO 10993: biological evaluation of medical devices. In: *Medical device guidelines and regulations handbook*. Cham: Springer; 2022. p. 163–87.
26. Shi ZZ, Gao XX, Zhang HJ, Liu XF, Li HY, Zhou C, et al. Design of biodegradable Zn alloys and role of second phases. *Bioact Mater*. 2020; 5 (2): 210–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.02.010>.
27. Shao X, Wang X, Xu F, Dai T, Zhou JG, Liu J, et al. In vivo biocompatibility of Zn-Mg-Fe alloy. *Bioact Mater*. 2022; 7: 154–66. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.05.012>.
28. Li HF, Xie XH, Zheng YF, Cong Y, Zhou FY, Qiu KJ, et al. Development of biodegradable Zn-1X binary alloys with nutrient alloying elements Mg, Ca and Sr. *Sci Rep*. 2015; 5: 10719. Available from: <https://doi.org/10.1038/srep10719>.
29. Klíma K, Ulmann D, Bartoš M, Španko M, Dušková J, Vrbová R, et al. In vivo degradation of ZnMgSr alloy in rabbit bones. *Int J Mol Sci*. 2021; 22 (24): 13444. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms222413444>.

АНАЛИЗ БИОСОВМЕСТИМОСТИ МИКРОСТРУКТУРИРОВАННЫХ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В РЕКОНСТРУКТИВНОЙ ХИРУРГИИ

М. А. Габрияничик¹, О. Ю. Антонова², М. Е. Тайлаков², В. А. Грачев³, К. С. Пирогов⁴, О. И. Старцева¹, И. Л. Канев²✉

¹ Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова, Москва, Россия

² Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, Пущино, Россия

³ Московский политехнический университет, Москва, Россия

⁴ Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

Реконструкция периферических нервов остается актуальной задачей хирургии. «Золотым стандартом» восстановления дефектов служит аутологичная нейрорепластика, ограниченная дефицитом материала, что обуславливает интерес к биосовместимым полимерам для искусственных кондуитов. Цель данной работы — оценить биосовместимость *in vitro* и тканевую реакцию на подкожную имплантацию *in vivo* перспективных микроструктурированных материалов. Цитотоксичность пористого поликапролактона (ПКЛ), композита ПКЛ с коллагеном, волокнистого ПКЛ и нановолокнистого полиамида оценивали на фибробластах L929. Для проведения *in vivo* испытаний образцы материалов имплантировали мышам C57BL/6 с, через 14 суток выполняли гистологический анализ. *In vitro* максимальную жизнеспособность и адгезию показал пористый ПКЛ, минимальную — волокнистый ПКЛ. *In vivo* пористый ПКЛ и нановолокнистый полиамид вызвали минимальное воспаление, а композит ПКЛ с коллагеном и волокнистый ПКЛ — гранулематозное воспаление, макрофагальную инфильтрацию и формирование фиброзной капсулы. Наиболее биосовместимые материалы — пористый ПКЛ и нановолокнистый полиамид — перспективны для создания биомиметического кондуита с барьерной оболочкой из пористого ПКЛ и ориентированным каркасом из полиамидных нановолокон.

Ключевые слова: искусственные кондуиты, направленная регенерация, сканирующая электронная микроскопия, поликапролактон, полиамид, реакция на инородное тело, макрофагальная инфильтрация, цитотоксичность

Финансирование: исследование выполнено в рамках исследовательского проекта, спонсируемого ООО «Нейрокондуит», и государственного задания ИТЭБ РАН №FFRS-2024-0016.

Благодарности: авторы выражают глубокую благодарность за помощь сотрудникам vivария регенеративной медицины Первого МГМУ им. И. М. Сеченова, Я. В. Христидис, Б. П. Ершову, а также лаборатории цифрового микроскопического анализа, А. Л. Файзуллину. Исследования ультраструктуры материалов проводили с использованием оборудования ЦКП ФМИ ИОНХ РАН.

Вклад авторов: М. А. Габрияничик — концепция и дизайн исследования, редактирование; О. Ю. Антонова — разработка дизайна, проведение испытаний *in vitro*, анализ данных, подготовка текста; М. Е. Тайлаков — изготовление материалов, анализ и статистическая обработка данных, редактирование; В. А. Грачев — изготовление материалов, анализ и статистическая обработка данных; К. С. Пирогов — подготовка текста; О. И. Старцева — концепция и дизайн исследования, редактирование; И. Л. Канев — концепция изготовления и анализ структуры материалов, анализ данных, подготовка текста.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом Первого МГМУ им. И. М. Сеченова (протокол № 10-25 от 24 апреля 2025 г.), проведено с соблюдением положений Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которых используют для экспериментальных и других научных целей.

✉ **Для корреспонденции:** Игорь Леонидович Канев
ул. Институтская, д. 3, г. Пущино, 142290, Россия; 4kanev@gmail.com

Статья получена: 14.04.2026 **Статья принята к печати:** 09.05.2026 **Опубликована онлайн:** 12.06.2026

DOI: 10.24075/vrgmu.2026.029

Авторские права: © 2026 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/>).

BIOCOMPATIBILITY OF MICROSTRUCTURED POLYMER MATERIALS WITH POTENTIAL USE IN RECONSTRUCTIVE SURGERY

Gabriyanichik MA¹, Antonova OY², Taylakov ME², Grachev VA³, Pirogov KS⁴, Startseva OI¹, Kanev IL²✉

¹ Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

² Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of the Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia

³ Moscow Polytechnic University, Moscow, Russia

⁴ Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Reconstruction of peripheral nerves remains an urgent surgical problem. Autologous nerve grafting is the gold standard for bridging nerve defects, but it is limited by the shortage of donor material, which drives interest in biocompatible polymers for artificial conduits. The aim of this study was to evaluate biocompatibility *in vitro* and tissue response to subcutaneous *in vivo* implantation of perspective microstructured materials. The cytotoxicity of porous polycaprolactone (PCL), PCL–collagen composite, fibrous PCL, and nanofibrous polyamide was assessed on L929 fibroblasts. For *in vivo* testing, material samples were implanted into C57BL/6 mice, and histological analysis was performed after 14 days. *In vitro* porous PCL exhibited the highest viability and adhesion, while fibrous PCL showed the lowest. *In vivo* porous PCL and nanofibrous polyamide caused minimal inflammation, whereas PCL–collagen composite and fibrous PCL induced granulomatous inflammation, macrophage infiltration, and formation of fibrous capsule. The most biocompatible materials — porous PCL and nanofibrous polyamide — show promise for a biomimetic conduit with an outer barrier shell of porous PCL and an inner aligned scaffold of polyamide nanofibers.

Keywords: artificial conduits, targeted regeneration, scanning electron microscopy, polycaprolactone, polyamide, foreign body reaction, macrophage infiltration, cytotoxicity

Funding: the study was part of a research project sponsored by Neuroconduit LLC and financed under the state assignment No. FFRS-2024-0016 executed by Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of the Russian Academy of Sciences.

Acknowledgements: the authors express their deep gratitude for the help of the staff of the Vivarium of Regenerative Medicine of the I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, JV Khristidits, BP Ershov, as well as the Laboratory of Digital Microscopic Analysis, AL Fayzulin. Ultrastructure of the materials was examined on equipment of the Research Equipment Sharing Center of Physical Methods for Studying Substances and Materials at the Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences.

Author contribution: Gabriyanichik MA — research concept and design, editing; Antonova OY — design development, *in vitro* testing, data analysis, text preparation; Taylakov ME — production of materials, analysis and statistical data processing, editing; Grachev VA — production of materials, analysis and statistical data processing; Pirogov KS — text preparation; Startseva OI — concept and design of research, editing; Kanev IL — production concept and analysis of the structure of materials, data analysis, text preparation.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Minutes No. 10–25 of April 24, 2025), and conducted in compliance with the provisions of the European Convention for the Protection of Vertebrates used for Experimental and Other Scientific Purposes.

✉ **Correspondence should be addressed:** Igor L. Kanev
Institutskaya, 3, Pushchino, 142290, Russia; 4kanev@gmail.com

Received: 14.04.2026 **Accepted:** 09.05.2026 **Published online:** 12.06.2026

DOI: 10.24075/brsmu.2026.029

Copyright: © 2026 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/>).

Использовали двухкомпонентные растворы ПКЛ+ПВП и ПКЛ+КЛГ в гексафторизопропанол (Sigma-Aldrich, США). Число циклов нанесения-сушки подбирали для каждого раствора отдельно для достижения необходимой толщины пленки. Пленки сушили при комнатной температуре в течение 24 ч до полного удаления растворителя. Затем образцы ПКЛ+ПВП промывали 96%-м этанолом (Sigma-Aldrich, США) в течение 48 ч для формирования пористой структуры и высушивали в течение 24 ч при комнатной температуре.

Получение волокнистых материалов

Материал пористого ПКЛ был получен методом электроспиннинга из раствора ПКЛ с массовой концентрацией 14% в ледяной уксусной кислоте («ХИММЕД», Россия) в установке HZ-11 (Ame-energy, КНР). Напыление раствора полимера проводили на слой фольги на заземленном вращающемся коллекторе до достижения желаемой толщины пленки. Материал сушили на коллекторе при комнатной температуре в течение 24 ч до полного удаления растворителя.

Материал из ориентированных нано- и микроволокон из ПА46 был получен методом послойного электроспиннинга по методике, описанной ранее [20]. Проводили последовательное электронапыление на вращающийся заземленный проволочный коллектор растворов ПА46 в муравьиной кислоте («Компонент-Реактив», Россия) с образованием композитного многослойного материала, состоящего из свободно висящих параллельных полимерных волокон с разным диаметром. Материал высушивали на коллекторе при комнатной температуре в течение 24 ч до полного удаления растворителя.

Характеристика структуры

Электронно-микроскопические изображения структуры материалов получали с использованием сканирующего электронного микроскопа TESCAN AMBER GMH (TESCAN, Чехия) при ускоряющем напряжении 1 кэВ с помощью детектора вторичных электронов Эверхарта-Торнли. Для анализа размера пор, образующихся в процессе вымывания коллагена из материала ПКЛ+КЛГ, образец предварительно инкубировали в течение 7 суток в стерильной воде при 37 °С. Для анализа распределения размеров волокон в волокнистом ПКЛ монослой полимера наносили на стеклянную подложку. Анализ изображений и подсчет размерных характеристик проводили в программном обеспечении ImageJ (NIH, США).

Плазменная активация поверхности полимерных материалов

Перед проведением биологических испытаний все образцы материалов, кроме ПКЛ+КЛГ, были обработаны в плазме для стерилизации, повышения гидрофильности и биосовместимости. Обработку проводили в установке PT-5CM 5L 300W (Jiangsu Danyang, Китай) в течение 20 с при мощности обработки 60% от максимальной; в ходе предварительных испытаний подтверждено, что в волокнистых материалах в данном режиме обработки сохраняется близкое к исходному значению среднего диаметра волокон, а также не нарушается односторонняя ориентация волокон.

In vitro анализ биосовместимости

Для анализа цитотоксичности материалов использовали контактный метод дифференцированного флуоресцентного окрашивания. Образцы материалов размером 5 × 5 мм были простерилизованы обработкой в плазме и УФ-облучением в течение 20 мин. Клеточная линия фибробластов L929 была предоставлена УНУ «Коллекция клеточных культур» ЦКП ИБР РАН. Клетки высевали в плотности 5 × 10⁴ кл./лунку в четырехлуночные планшеты в среде ДМЕМ/F12 (1 : 1) с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки и 1% раствора пенициллин-стрептомицина и культивировали в течение 72 ч. Для окрашивания в среду добавляли 1 мкМ пропидиум йодида и 2 мкМ кальцеина-АМ и инкубировали в течение 20 мин. Образцы промывали фосфатно-солевым буфером и визуализировали с помощью флуоресцентного микроскопа (Axiovert 200M, Zeiss, Германия). Количественный подсчет клеток проводили на двух независимых образцах материалов каждого типа в шести случайно выбранных полях зрения.

Подготовка образцов для имплантации

Для проведения испытаний на животных полученные материалы были нарезаны на квадраты со стороной 5 мм. Образцы хранили в сухом виде в герметичной упаковке при комнатной температуре. За 2 ч до имплантации образцы были погружены в раствор антибиотика-антимикотика (Capricorn Scientific, Германия).

Дизайн исследования *in vivo*

Для оценки тканевой реакции на имплантацию исследуемых материалов *in vivo* использовали иммунокомпетентных мышей-самцов линии C57BL/6 ($n = 25$) в возрасте 6–12 недель и массой тела 25 ± 5 г. Размер экспериментальных групп для оценки биосовместимости материалов методом подкожной имплантации был определен исходя из необходимости получения достаточного количества образцов для микроанализа (срезов) для описательной оценки тканевой реакции. Согласно межгосударственному стандарту оценки биологического действия медицинских изделий ГОСТ ISO 10993–6–2021, для исследования каждого биоматериала данным методом используют не менее трех животных. Животных содержали в изолированных клетках со стандартным 24-часовым циклом день/ночь и доступом к пище и воде *ad libitum* на базе виварного комплекса Первого МГМУ им. И. М. Сеченова. Животные были случайным образом разделены на пять экспериментальных групп (по пять особей в каждой): группы 1–3 — подкожная имплантация пористого ПКЛ, композита ПКЛ+КЛГ и волокнистого ПКЛ соответственно; группа 4 — подкожная имплантация волокнистого ПА; группа 5 — ложнопериорванный контроль (хирургический доступ без имплантации материала).

Хирургическое вмешательство

Оперативные вмешательства выполняли в стерильных условиях с соблюдением правил асептики и антисептики. Общую анестезию индуцировали внутривенным введением комбинации препаратов: тилетамин/золазепам (Zoletil 100, VIRBAC, Франция) в дозе 20 мг/кг и ксилазин (Ксила, Interchemie, Нидерланды) в дозе 5 мг/кг. Для предотвращения высыхания роговицы на конъюнктиву

Таблица 1. Состав и структурные характеристики исследуемых полимерных материалов

Название материала при проведении <i>in vivo</i> испытаний	Состав	Толщина, мкм	Характеристика структурных элементов
Тип 1	Пористый ПКЛ	65	Диаметр пор $0,44 \pm 0,17$ мкм
Тип 2	ПКЛ+КЛГ 1 : 1 масс.	35	Диаметр пор $0,10 \pm 0,03$ мкм
Тип 3	Волокнистый ПКЛ	500	Диаметр волокон $0,69 \pm 0,32$ мкм
Наполнитель	Волокнистый ПА	10	Слои ориентированных волокон с диаметрами 60 и 200 нм

Примечание: ПКЛ — поликапролактон; КЛГ — коллаген; ПА — полиамид наносили декспантенол (Корнерегель, Bausch & Lomb, Германия).

В межлопаточной области выщипывали шерсть, операционное поле обрабатывали раствором повидон-йода («ЮжФарм», Россия). Выполняли продольный разрез кожи длиной 1–1,5 см. С помощью тупой диссекции жировой клетчатки формировали подкожный карман в проекции правой лопатки, в который помещали исследуемый материал. Рану ушивали простым узловым швом полиглактиновой нитью 4-0 (Vicryl, Ethicon, США) и повторно обрабатывали антисептиком. В послеоперационном периоде животным проводили анальгетическую терапию кетопрофеном («Кетонал», Sandoz, Словения) в дозе 5 мг/кг и антибиотикотерапию энрофлоксацином (Байтрил 5%, Bayer Animal Health, Германия) в дозе 20 мг/кг подкожно 1 раз в сутки в течение 3 дней.

Гистологическое исследование

На 14-е сутки после оперативного вмешательства животных выводили из эксперимента методом эвтаназии в CO_2 -камере («Эвтанаизер-2М», Россия). Срок продолжительности наблюдения за лабораторными животными (14 дней) обусловлен частью 6 ГОСТ ISO 10993-6-2021 (Исследование местного действия после имплантации): рекомендуемая минимальная продолжительность наблюдения за лабораторными мышами составляет 13 суток после имплантации. Фрагменты кожи с подкожной клетчаткой, подлежащими мышцами и имплантированным кондуитом иссекали единым блоком и фиксировали в 10%-м нейтральном забуференном формалине. После стандартной гистологической проводки образцы заливали в парафин. Срезы толщиной 3–4 мкм окрашивали гематоксилином и эозином по стандартному протоколу. Полученные микропрепараты оцифровывали с использованием сканера гистологических препаратов NanoZoomer S20 (Hamamatsu, Япония) при увеличении $\times 400$. Оценку тканевой реакции (выраженность воспалительного инфильтрата, наличие гигантских клеток инородных тел, толщину соединительнотканной капсулы и степень неоваскуляризации) проводили в программе NDP.view 2 (Hamamatsu, Япония).

Статистический анализ

Статистическую обработку выполняли в программе Origin 2022 (OriginLab, США). Гистограмма экспериментальных данных с размерами структурных элементов исследуемых материалов демонстрировала близкую к симметричной колоколообразную форму, для статистического описания и получения среднего значения была использована нормальная аппроксимация. Проверку нормальности распределения проводили с использованием критерия Колмогорова–Смирнова. Данные представлены в

виде среднего значения и стандартного отклонения ($M \pm SD$). Статистические различия анализировались с использованием непарного двухстороннего *t*-критерия Стьюдента для данных двух групп (* $p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Структура материалов

Для проведения *in vitro* и *in vivo* испытаний биосовместимости были изготовлены четыре типа материалов с различным составом и структурой, два из которых представляют собой полимерные пленки, и еще два — 3D-материалы из микро- и нановолокон. Состав и характеристики материалов представлены в табл. 1.

Структура материалов (тип 1–3) была исследована методом сканирующей электронной микроскопии, микрофотографии поверхности образцов и распределения размеров структурных элементов (диаметры пор и волокон) представлены на рис. 1.

Исследование биосовместимости материалов *in vitro*

Испытания биосовместимости материалов *in vitro* были проведены на культуре клеток фибробластов мыши L929. Клеточная линия и время инкубации для исследования цитотоксичности материала при прямом контакте были выбраны с учетом рекомендаций международного стандарта ISO 10993-5 «Биологическая оценка медицинских изделий». Через 72 ч культивирования методом флуоресцентной микроскопии была проведена оценка соотношения фракций живых и мертвых клеток, а также среднее количество клеток на 1 мм^2 площади поверхности полимера (рис. 2, табл. 2).

Оценка биосовместимости *in vivo* (модель подкожной имплантации)

Клиническое наблюдение в послеоперационном периоде показало, что животные перенесли процедуру имплантации удовлетворительно. Заживление ран происходило первичным натяжением, к 7-м суткам раны были полностью закрыты, к 13-м суткам область вмешательства была полностью покрыта шерстью, швы состоятельны. Макроскопических признаков гиперемии и иных изменений кожи над областью имплантации не отмечалось.

При гистологическом исследовании в группе ложнооперированного контроля определялась нормальная морфологическая структура кожи спины: многослойный ороговевающий эпителий с придатками, подкожно-жировая клетчатка и подлежащая мышечная ткань без признаков воспалительной инфильтрации (рис. 3).

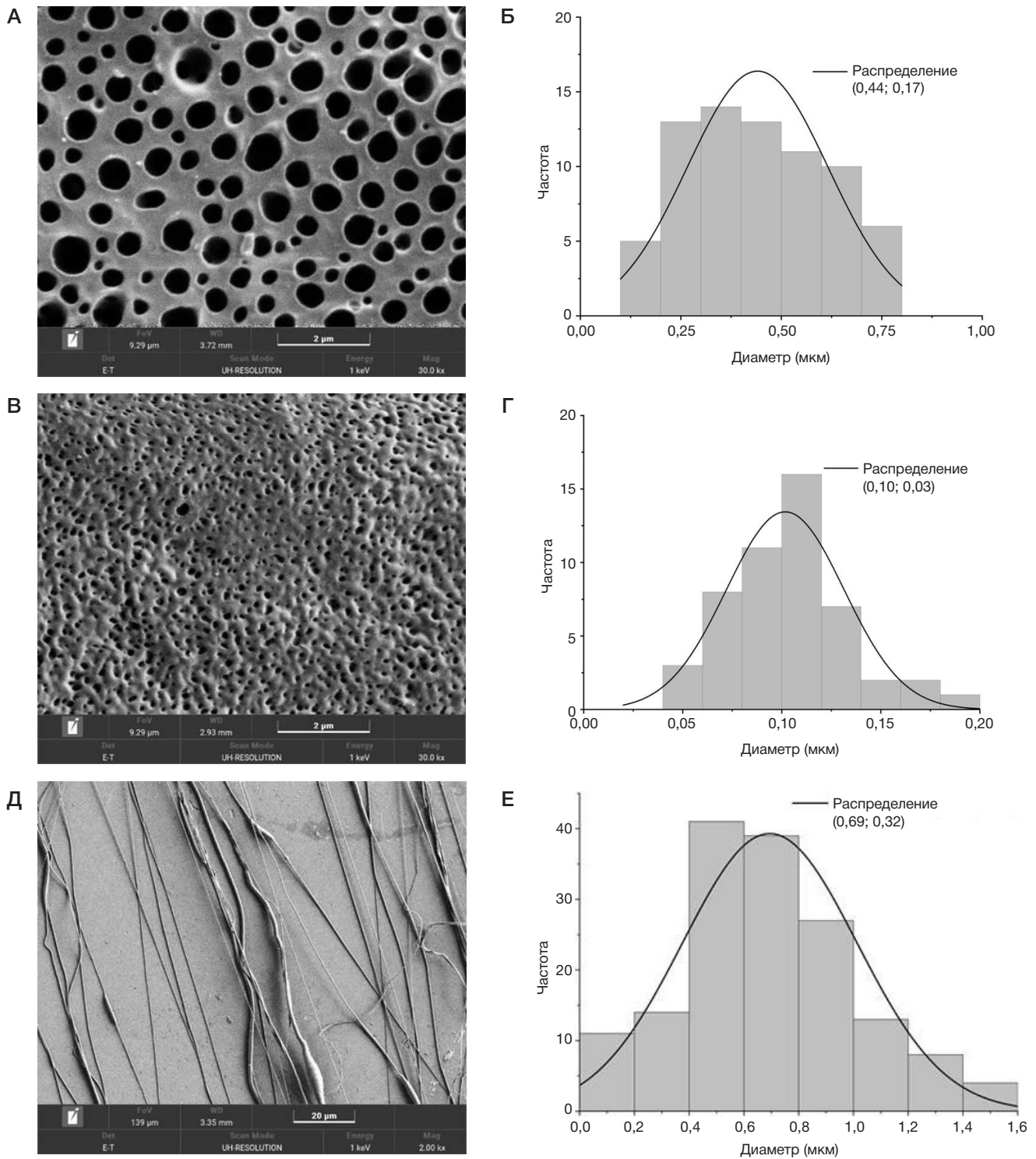


Рис. 1. Микрофотографии и анализ структуры материалов методом сканирующей электронной микроскопии. Числовые данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения (M; SD). А, Б. Пористый ПКЛ. В, Г. ПКЛ+КЛГ (после промывки в воде). Д, Е. Волокнистый ПКЛ.

Гистологическая картина при имплантации полимерных пленок

В группе имплантации пористого ПКЛ материал определялся непосредственно под кожей в виде плотной структуры длиной 5–6 мм и толщиной 20–40 мкм. Клеточная инфильтрация в толщу полимера отсутствовала. Вокруг имплантата формировалась тонкая соединительнотканная капсула, состоящая из 3–4 пучков коллагеновых волокон с фибробластами, покрытая выстилкой из макрофагов и единичных гигантских многоядерных клеток инородных

тел. Признаков активной васкуляризации капсулы или дистрофических изменений окружающих тканей не выявлено. В четырех из пяти образцов воспалительный ответ оценивался как минимальный. В одном случае отмечена умеренная нейтрофильная инфильтрация, вероятно, обусловленная локальной механической травматизацией вследствие миграции имплантата (рис. 4).

Композитный материал ПКЛ+КЛГ визуально не отличался по размерам и плотности от пористого ПКЛ, однако вызывал выраженное гранулематозное воспаление как реакцию на инородное тело во всех

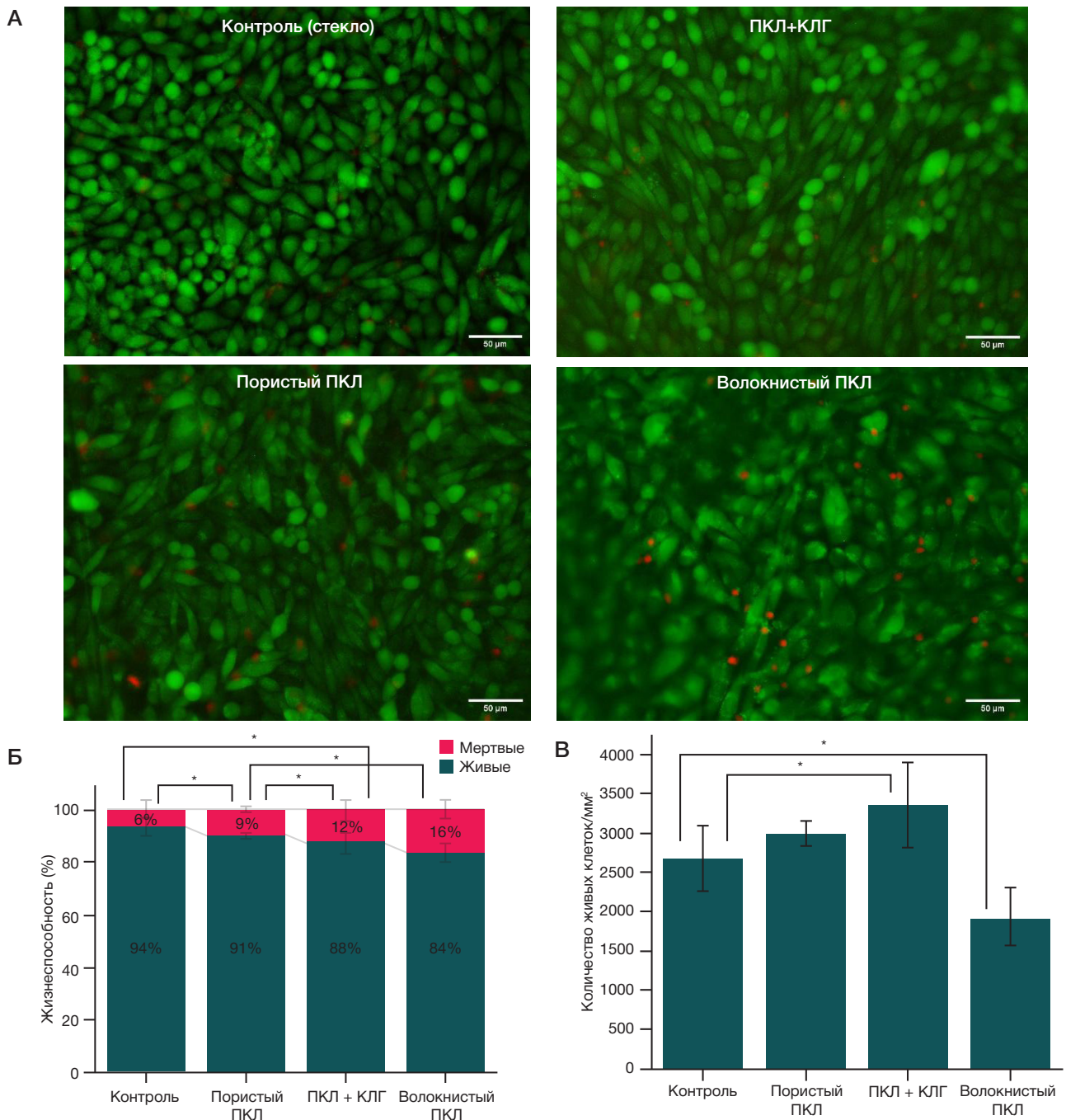


Рис. 2. А. Фотографии клеток фибробластов мыши L929, культивируемых на разных материалах. Флуоресцентное окрашивание живых и мертвых клеток (кальцеин АМ (зеленый; живые клетки) / пропидиум йодид (красный; мертвые клетки)). Шкала — 50 мкм. **Б.** Жизнеспособность клеток L929 при культивировании на разных материалах ($n = 6$). Данные представлены как среднее значение \pm стандартное отклонение (SD). **В.** Плотность клеток на разных материалах. **Б, В.** Данные представлены как среднее значение \pm стандартное отклонение (SD). Статистические различия анализировали с использованием непарного двухстороннего t -критерия Стьюдента для данных двух групп ($n = 6$, * $p < 0,05$)

исследованных образцах. Вдоль всей поверхности имплантата регистрировалось скопление макрофагов и гигантских клеток инородных тел в несколько слоев (количественно в 4–5 раз больше, чем в группе с пористым ПКЛ). Соединительнотканная капсула была значительно утолщена (до 100 мкм), представлена 10–20 параллельными пучками коллагеновых волокон, богато васкуляризирована и сопровождалась выраженной периваскулярной реакцией с участием лимфоцитов и макрофагов. В окружающих тканях регистрировалось выраженное полнокровие сосудов.

Волокнистый ПКЛ (толщина 200–400 мкм, в среднем 300–350 мкм) характеризовался более рыхлой структурой

с овальными пустотами (диаметром 10–30 мкм), образованными вследствие вымывания полимерного материала в процессе гистологической подготовки. В трех из пяти образцов материал был обильно инфильтрирован лимфоцитами и макрофагами, формирующими множественные гигантские клетки инородных тел преимущественно вокруг пустот. В толще материала определялась густая сеть полнокровных сосудов. Вокруг полимера формировалась плотная капсула из 3–5 пучков коллагеновых волокон. В одном из образцов отмечалось неравномерное прорастание материала окружающими тканями, что может указывать на неоднородность структуры образца.

Таблица 2. Результаты анализа биосовместимости материалов *in vitro*. Данные представлены как среднее значение \pm стандартное отклонение ($M \pm SD$).

Тип материала	Доля живых клеток, %	Общее количество кл./мм ²
Контроль (стекло)	94,4 \pm 3,7	2695 \pm 422
Пористый ПКЛ	90,5 \pm 1,3	2987 \pm 161
ПКЛ+КЛГ 1:1 масс.	87,7 \pm 4,3	3366 \pm 536
Волокнистый ПКЛ	83,8 \pm 3,6	1920 \pm 372

Гистологическая картина при имплантации ПА

В группе применения волокнистого ПА материал визуализировался в виде клубка рыхлых волокон (в одном случае — горизонтально ориентированной пленки). Наполнитель вызывал наиболее слабую иммунную реакцию среди всех исследуемых образцов: регистрировался минимальный макрофагальный ответ с образованием единичных гигантских клеток инородных тел. Формирование выраженной соединительнотканной капсулы и признаки неангиогенеза вокруг данного материала отсутствовали (рис. 5). У двух животных в проекции имплантации отмечались воспалительно-деструктивные изменения кожи, у одного из них — с нарушением непрерывности эпителиального слоя.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные результаты следует рассматривать как часть этапа первичного доклинического скрининга микро- и наноструктурированных полимерных материалов, потенциально применимых в области реконструктивной хирургии и тканевой инженерии. Модель подкожной имплантации не воспроизводит специфическое микроокружение конкретного органа или ткани, однако позволяет оценить универсальные параметры биосовместимости имплантируемых материалов: выраженность реакции на инородное тело, степень воспалительной инфильтрации, формирование соединительнотканной капсулы, признаки неангиогенеза и локального повреждения окружающих тканей [1–3, 15]. Эти характеристики имеют значение для различных имплантируемых конструкций, включая барьерные мембраны, опорные матрицы, внутрипросветные наполнители и направляющие каркасы.

Одним из наиболее требовательных вариантов применения подобных материалов является создание искусственных нервных кондуитов, предназначенных для соединения концов поврежденного нерва и формирования

контролируемой среды для регенерации. Материал стенки кондуита должен обеспечивать механическую стабильность конструкции, возможность фиксации в зоне повреждения, а также барьерную функцию, препятствующую врастанию окружающей соединительной ткани в просвет имплантата. Среди прошедших регистрацию медицинских изделий встречаются как конструкции на основе природных полимеров, в частности коллагена, так и изделия из синтетических материалов, включая поливиниловый спирт и полигликолевую кислоту [24].

В данном исследовании в качестве одного из основных материалов для формирования наружной стенки имплантируемой конструкции был выбран ПКЛ. Он обладает благоприятными механическими свойствами, технологичностью, позволяет изготавливать тонкие имплантируемые пленки и шовный материал, характеризуется высокой биосовместимостью и одобрен FDA для медицинского применения [11]. Ранее описаны экспериментальные прототипы ИНК на основе волокнистых структур [12] и экструдированных спиралей [13] из ПКЛ.

Для проведения *in vitro* и *in vivo* испытаний были изготовлены пленки из пористого ПКЛ, пленки из композита ПКЛ с коллагеном, а также волокнистый ПКЛ, состоящий из микронных волокон, полученных методом электроспиннинга. Пористые и волокнистые материалы представляют интерес для реконструктивных имплантатов, поскольку могут сочетать барьерную функцию с возможностью диффузии газов, питательных веществ и биологически активных молекул [10, 16]. В контексте нервных кондуитов это особенно важно при реконструкции протяженных дефектов, где необходимо поддерживать жизнеспособность клеток во внутренней полости имплантата и одновременно ограничивать врастание рубцовой ткани. Анализ структуры полученных материалов показал, что пористый ПКЛ обладал большим размером пор по сравнению с пленкой ПКЛ+КЛГ, однако в обоих случаях размер пор был существенно меньше размера клеток соединительной ткани, что потенциально

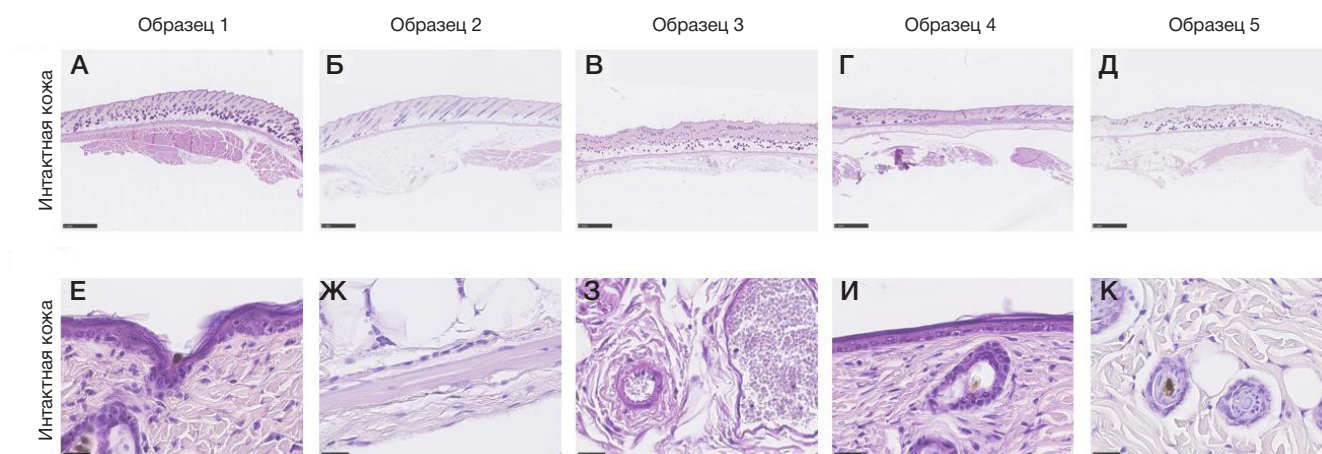


Рис. 3. Морфологическая структура кожи спины мыши в контрольной группе. Окраска гематоксилином-эозином, увеличение $\times 25$ (А–Д) и $\times 800$ (Е–К)

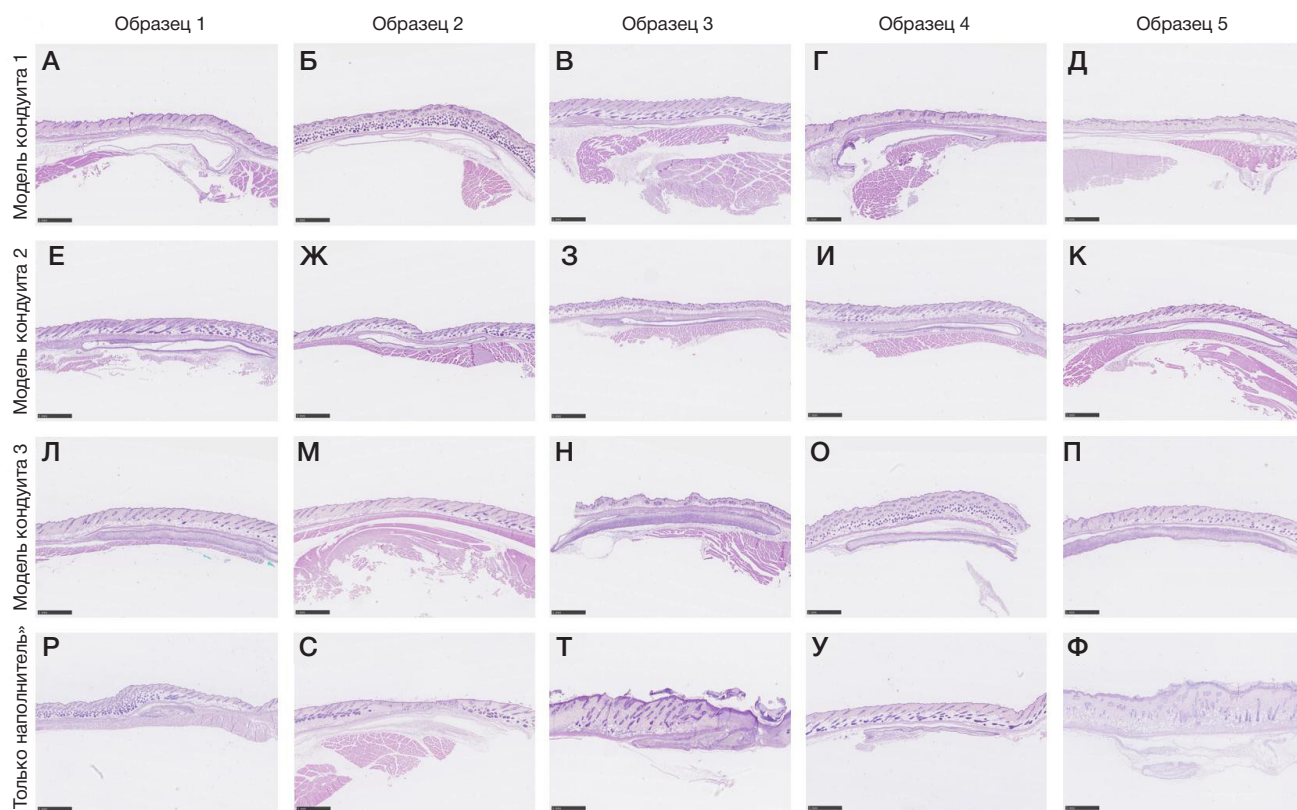


Рис. 4. Морфологическая картина участков имплантации моделей материалов и наполнителя. Обозначения моделей материалов и наполнителя: модель 1 — пористый ПКЛ; модель 2 — ПКЛ+КЛГ; модель 3 — волокнистый ПКЛ; наполнитель — волокнистый ПА. Окраска гематоксилином-эозином, увеличение $\times 25$

может препятствовать их проникновению во внутреннее пространство конструкции.

Перед проведением испытаний материалы на основе ПКЛ были обработаны низкотемпературной плазмой для повышения гидрофильности, биосовместимости и адгезионных свойств поверхности. Испытания *in vitro* на культуре фибробластов L929 подтвердили отсутствие выраженной цитотоксичности у исследованных материалов: доля живых клеток через 72 ч культивирования превышала 80%. При этом волокнистый ПКЛ характеризовался примерно на треть меньшей плотностью клеточного заселения по сравнению с пленочными материалами. Полученные данные согласуются с ранее опубликованными результатами, демонстрирующими влияние микроструктуры поверхности полимерных материалов на клеточную адгезию и распределение клеток [23].

Помимо наружной стенки, современные имплантируемые конструкции для восстановления периферических нервов могут включать внутренние элементы, выполняющие функцию направляющего каркаса. Среди таких решений описаны канавки и каналы в толще материала, гидрогели, губчатые структуры, многоканальные конструкции и пучки ориентированных волокон во внутренней полости кондуита [19, 25]. Ранее авторами вышеупомянутых статей было продемонстрировано, что материал из нейлоновых нановолокон диаметром 50–100 нм способен направлять рост нейритов за счет имитации ультраструктуры внеклеточного матрикса, причем направление роста нервных отростков совпадает с ориентацией волокон [21]. Показано также, что композитный материал, содержащий слои волокон диаметром 60 и 200 нм, стимулирует пролиферацию и поляризацию шванновских клеток, а в условиях *ex vivo* способствует направленному росту аксонов дорсальных корешковых ганглиев [20]. Поэтому

материал из ориентированных полиамидных нановолокон может быть рассмотрен как перспективный элемент внутренней архитектуры кондуита, предназначенный для обеспечения контактного наведения и правильной пространственной организации регенерирующих аксонов [22].

Проведенное исследование *in vivo* подтвердило, что не только химический состав, но и физическая структура, пористость и топография поверхности полимерных материалов существенно определяют характер локального иммунного ответа. Наиболее благоприятный профиль тканевой реакции был выявлен у пористого ПКЛ и волокнистого полиамида. Эти материалы вызывали минимальную воспалительную реакцию, не сопровождались выраженным гранулематозным воспалением и не приводили к формированию массивной фиброзной капсулы. Такой тип ответа можно рассматривать как наиболее предпочтительный для имплантируемых конструкций, где требуется сочетание биоинертности, структурной стабильности и отсутствия неконтролируемого фиброза.

Особое значение эти результаты имеют для разработки искусственных нервных кондуитов. Избыточная реакция на инородное тело и формирование плотной рубцовой ткани вокруг имплантата могут создавать механический барьер для регенерации, нарушать трофику растущих аксонов и ограничивать физиологическую подвижность реконструируемого нервного ствола [14, 15]. В нашем исследовании вокруг пористого ПКЛ формировалась лишь тонкая соединительнотканная капсула без признаков активного неоваскуляризации и выраженной воспалительной инфильтрации. Такой баланс свидетельствует о высокой биосовместимости материала и делает его перспективным кандидатом для создания наружного барьерного слоя

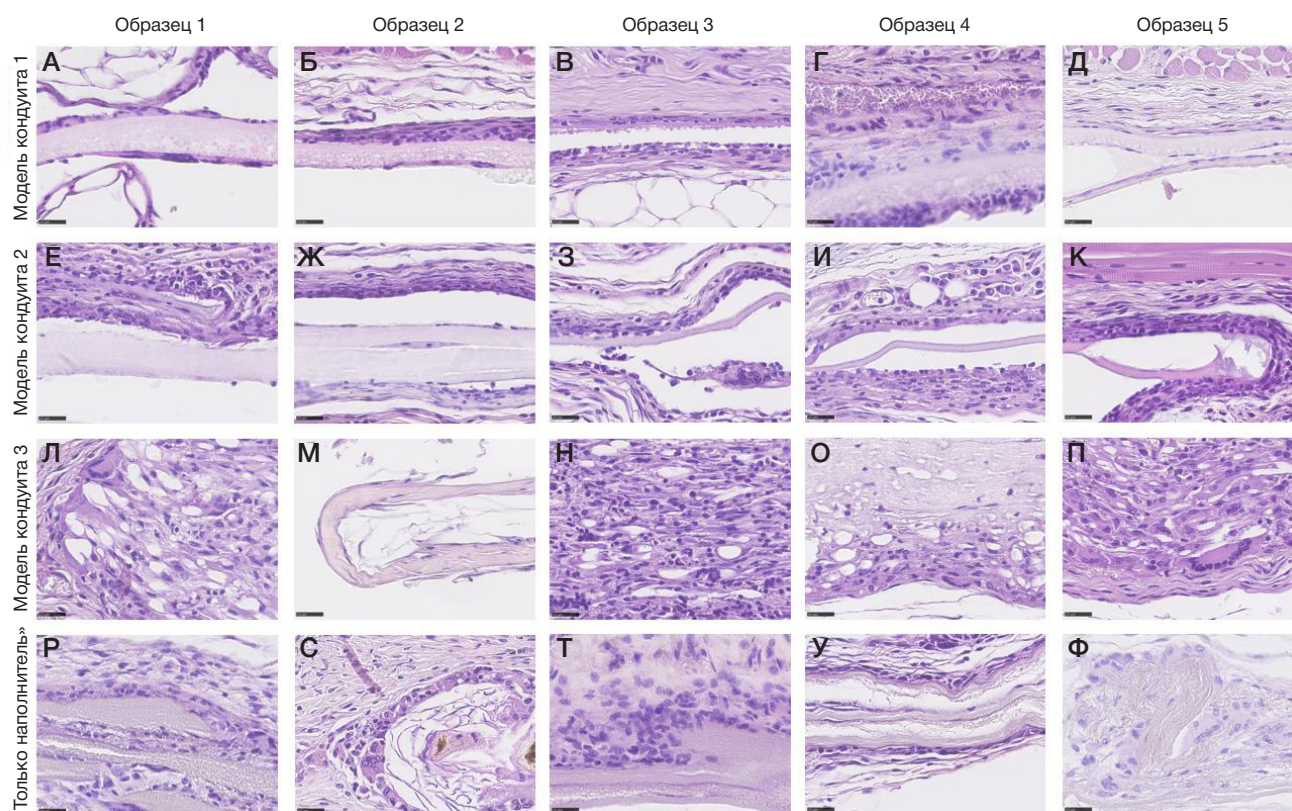


Рис. 5. Морфологическая картина участков имплантации моделей материалов и наполнителя. Обозначения моделей материалов и наполнителя: модель 1 — пористый ПКЛ; модель 2 — ПКЛ+КЛГ; модель 3 — волокнистый ПКЛ; наполнитель — волокнистый ПА. Окраска гематоксилином-эозином, увеличение $\times 800$

имплантируемых конструкций. В контексте нервной регенерации подобная структура может быть особенно полезна, поскольку позволяет сохранить просвет кондукта и ограничить экстраневральный фиброз без хронической агрессии со стороны макрофагального звена [3, 26].

Отдельного внимания заслуживают результаты имплантации волокнистого полиамида. Этот материал продемонстрировал наименьшую выраженность тканевой реакции среди всех исследованных образцов: вокруг него не формировалась выраженная соединительнотканная капсула, а макрофагальная реакция была минимальной. Для реконструктивной хирургии это указывает на хорошую переносимость материала при контакте с тканями. Для нервных кондуктов значение данного результата особенно важно, поскольку внутрипросветный наполнитель должен не только задавать направление роста клеток и аксонов, но и не провоцировать воспаление внутри зоны регенерации. Полученные данные согласуются с ранее показанной способностью ориентированных полиамидных нановолокон поддерживать рост нейритов и направленную миграцию клеток периферической нервной системы [20, 21].

В отличие от пористого ПКЛ и волокнистого полиамида, имплантация композита ПКЛ+КЛГ и волокнистого ПКЛ сопровождалась более выраженной воспалительной реакцией. Формирование плотной фиброзной капсулы толщиной до 100 мкм вокруг композита ПКЛ+КЛГ свидетельствует о выраженной реакции на инородное тело. Несмотря на то что коллаген широко используют в биомедицинских материалах, его включение в состав композитной пленки в данном случае не улучшило профиль тканевой реакции, а сопровождалось усилением макрофагальной инфильтрации, появлением гигантских клеток инородных тел и выраженной васкуляризацией капсулы. Это указывает на необходимость осторожной

и аккуратной интерпретации результатов *in vitro* цитосовместимости: отсутствие выраженной цитотоксичности не всегда означает благоприятный тканевой ответ после имплантации *in vivo*.

Тканевая реакция на волокнистый ПКЛ также оказалась менее благоприятной. Гистологически этот материал отличался рыхлой структурой и наличием пустот диаметром 10–30 мкм, вокруг которых концентрировались макрофаги и гигантские клетки инородных тел. С одной стороны, взаимосвязанная пористая сеть может быть полезна для диффузии кислорода и питательных веществ, а также для стимуляции ангиогенеза [10]. С другой стороны, чрезмерная рыхлость и недостаточная механическая стабильность волокнистой структуры могут способствовать прорастанию материала клетками воспалительного инфильтрата и формированию гранулематозной реакции. Вероятно, низкая устойчивость незакрепленных волокон к деформации и растяжению при имплантации способствовала неоднородному прорастанию ткани и образованию крупных пустот. При этом наличие сосудистой сети в толще материала подтверждает его способность поддерживать ангиогенез, однако выраженность макрофагальной реакции ограничивает его применение в неизменном виде.

Полученные данные следует учитывать при дальнейшем проектировании волокнистых имплантируемых материалов. Для снижения выраженности воспалительной реакции может потребоваться дополнительная стабилизация структуры, например путем локального сплавления, склеивания или формирования узловых участков фиксации волокон. В экспериментальных работах показано, что жесткость, регулярность и пространственная организация пористых структур из ПКЛ способны влиять на адгезию макрофагов и их поляризацию, включая сдвиг в сторону

M2-фенотипа, ассоциированного с противовоспалительным и репаративным ответами [27]. Следовательно, оптимизация не только химического состава, но и архитектуры материала является принципиальным условием для создания безопасных и функциональных имплантируемых конструкций.

Таким образом, проведенное исследование показывает, что микро- и наноструктурированные полимерные материалы с близкой исходной степенью биосовместимости *in vitro* могут существенно различаться по характеру тканевой реакции при их имплантации у животной модели *in vivo*. Наиболее перспективными среди исследованных материалов оказались пористый ПКЛ и волокнистый полиамид. В широком контексте реконструктивной хирургии их можно рассматривать как кандидатов для создания барьерных и направляющих имплантируемых структур. В более узком контексте реконструкции периферических нервов полученные данные обосновывают дальнейшую разработку гибридного биомиметического кондукта, сочетающего наружную стенку из пористого ПКЛ и внутренний ориентированный каркас из полиамидных нановолокон.

Ограничения исследования и направления для дальнейших исследований

Модель подкожной имплантации на мышах *in vivo* является классическим этапом первичного скрининга биологической безопасности и локальной тканевой реакции на новые полимерные материалы. Однако она не позволяет в полной мере оценить их поведение в условиях конкретной реконструктивной задачи, поскольку микроокружение подкожной клетчатки существенно отличается от тканей, для восстановления которых потенциально могут применяться данные материалы. В частности, при реконструкции периферического нерва ключевую роль играют процессы валлеровой дегенерации, деградации миелина, ремоделирования эндоневрального микроокружения и направленной миграции шванновских клеток [28].

Кроме того, использованная модель не позволяет оценить функциональные свойства материалов в составе финальной имплантируемой конструкции: механическую устойчивость в зоне дефекта, сохранение просвета кондукта, направленный рост аксонов, восстановление проводимости нерва и функциональный исход реконструкции. Кроме того, в рамках настоящего исследования не проводили иммуногистохимическую верификацию клеточного состава воспалительного инфильтрата, включая оценку макрофагальной реакции и поляризации макрофагов, что ограничивает интерпретацию механизмов локального иммунного ответа. В связи с этим следующим этапом исследования могут стать разработка и испытание комбинированной биомиметической конструкции, сочетающей внешнюю изолирующую оболочку на основе пористого ПКЛ и внутреннюю направляющую матрицу на основе волокнистого ПА. Для подтверждения применимости такой конструкции в реконструкции периферических нервов необходимы исследования на моделях травматического дефекта нерва с оценкой морфологических, электрофизиологических и функциональных исходов. Дополнительным перспективным направлением является функционализация разработанных структур адгезивными пептидными мотивами, например RGD или IKVAV [29],

а также нейротрофическими факторами, включая NGF и BDNF [30], для таргетной стимуляции клеточной адгезии, направленного роста аксонов и повышения регенеративного потенциала имплантата.

ВЫВОДЫ

В ходе исследования разработаны и структурно охарактеризованы четыре типа микро- и наноструктурированных полимерных материалов, потенциально применимых в реконструктивной хирургии и тканевой инженерии: пористый ПКЛ, композит ПКЛ и коллагена I типа, волокнистый ПКЛ и материал из высокоориентированных полиамидных нановолокон. Пористый ПКЛ (толщина 65 мкм; диаметр пор $0,44 \pm 0,17$ мкм) продемонстрировал наиболее благоприятный профиль биосовместимости. По данным *in vitro* испытания на культуре фибробластов L929 доля живых клеток составила $90,5 \pm 1,3\%$, плотность клеточного заселения — 2987 ± 161 кл/мм². По обоим показателям различия с контролем на стеклянной подложке ($94,4 \pm 3,7\%$; 2695 ± 422 кл/мм²) не достигали статистической значимости ($p > 0,05$), что указывает на отсутствие выраженного цитотоксического эффекта материала. При подкожной имплантации вокруг материала формировалась тонкая соединительнотканная капсула из 3–4 пучков коллагеновых волокон без признаков активного неоваскулогенеза, минимальный воспалительный ответ зарегистрирован в 4 из 5 образцов. Композит ПКЛ+КЛГ (толщина 35 мкм; диаметр пор $0,10 \pm 0,03$ мкм) при сопоставимой *in vitro* цитосовместимости (доля живых клеток $87,7 \pm 4,3\%$; плотность 3366 ± 536 кл/мм²) сопровождался наиболее выраженной *in vivo* реакцией на инородное тело: формированием утолщенной фиброзной капсулы (до 100 мкм; 10–20 параллельных пучков коллагеновых волокон), макрофагальной инфильтрацией с количеством гигантских клеток инородных тел, в 4–5 раз превышающим показатели группы пористого ПКЛ, и выраженной периваскулярной лимфоцитарно-макрофагальной реакцией. Волокнистый ПКЛ (толщина ~300–350 мкм; диаметр волокон $0,69 \pm 0,32$ мкм) продемонстрировал наименьшие значения *in vitro* жизнеспособности и плотности клеточного заселения ($83,8 \pm 3,6\%$; 1920 ± 372 кл/мм²). По обоим показателям различия с пористым ПКЛ и композитом ПКЛ+КЛГ были статистически значимыми ($p < 0,05$). При имплантации в трех из пяти образцов выявлены признаки гранулематозного воспаления с образованием множественных гигантских клеток инородных тел вокруг пустот в толще материала. Волокнистый полиамид (толщина 10 мкм; ориентированные волокна диаметром 60 и 200 нм) вызывал наименее выраженную тканевую реакцию среди всех исследованных материалов: формирование выраженной соединительнотканной капсулы и признаков неоваскулогенеза отсутствовало, зарегистрирован единственный макрофагальный ответ. Это согласуется с описанной ранее способностью ориентированных полиамидных нановолокон поддерживать направленный рост нейритов и миграцию шванновских клеток.

Таким образом, среди исследованных материалов пористый ПКЛ и волокнистый ПА можно рассматривать как наиболее перспективных кандидатов для разработки барьерных и направляющих имплантируемых конструкций в реконструктивной хирургии. Применительно к реконструкции периферических нервов полученные результаты обосновывают дальнейшую разработку

гибридного биомиметического кондуита, сочетающего наружную трубчатую стенку из пористого ПКЛ и внутренний ориентированный каркас из полиамидных нановолокон,

с последующей оценкой его эффективности на функциональных моделях повреждения периферического нерва.

Литература

- Fornasari BE, Carta G, Gambarotta G, Raimondo S. Natural-based biomaterials for peripheral nerve injury repair. *Front Bioeng Biotechnol.* 2020; 8: 554257. DOI: 10.3389/fbioe.2020.554257.
- Zhang M, Li C, Zhou LP, Pi W, Zhang PX. Polymer scaffolds for biomedical applications in peripheral nerve reconstruction. *Molecules.* 2021; 26 (9): 2712. DOI: 10.3390/molecules26092712.
- Kaplan B, Levenberg S. The role of biomaterials in peripheral nerve and spinal cord injury: a review. *Int J Mol Sci.* 2022; 23 (3): 1244. DOI: 10.3390/ijms23031244.
- Li R, Liu Z, Pan Y, Chen L, Zhang Z, Lu L. Peripheral nerve injuries treatment: a systematic review. *Cell Biochem Biophys.* 2014; 68 (3): 449–54. DOI: 10.1007/s12013-013-9742-1.
- Karumbaiah L. Neural tissue engineering. In: *Neural Engineering.* Berlin, Heidelberg: Springer; 2012. DOI: 10.1007/978-1-4614-5227-0_19.
- Duraku LS, Eberlin KR, Moore A, et al. Ten myths in nerve surgery. *Plast Reconstr Surg Glob Open.* 2024; 12 (8): e6017. DOI: 10.1097/GOX.0000000000006017.
- Zhai X, Wang Y. Physical modulation and peripheral nerve regeneration: a literature review. *Cell Regen.* 2024; 13: 32. DOI: 10.1186/s13619-024-00215-9.
- Zheng F, Li R, He Q, et al. The electrostimulation and scar inhibition effect of chitosan/oxidized hydroxyethyl cellulose/reduced graphene oxide/asiaticoside liposome based hydrogel on peripheral nerve regeneration in vitro. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2020; 109: 110560. DOI: 10.1016/j.msec.2019.110560.
- Wan T, Li QC, Zhang FS, et al. Biomimetic ECM nerve guidance conduit with dynamic 3D interconnected porous network and sustained IGF-1 delivery for enhanced peripheral nerve regeneration and immune modulation. *Mater Today Bio.* 2024; 30: 101403. DOI: 10.1016/j.mtbio.2024.101403.
- Wan T, Wang YL, Zhang FS, et al. The porous structure of peripheral nerve guidance conduits: features, fabrication, and implications for peripheral nerve regeneration. *Int J Mol Sci.* 2023; 24 (18): 14132. DOI: 10.3390/ijms241814132.
- Woodruff MA, Hutmacher DW. The return of a forgotten polymer—Polycaprolactone in the 21st century. *Prog Polym Sci.* 2010; 35 (10): 1217–56. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2010.04.002.
- Panahi-Joo Y, Karkhaneh A, Nourinia A, Abd-Emami B, Negahdari B, Renaud P, et al. Design and fabrication of a nanofibrous polycaprolactone tubular nerve guide for peripheral nerve tissue engineering using a two-pole electrospinning system. *Biomed Mater (Bristol).* 2016; 11 (2): 025017. DOI: 10.1088/1748-6041/11/2/025017.
- Nawrotek K, Mąkiewicz M, Zawadzki D. Fabrication and characterization of polycaprolactone/chitosan-hydroxyapatite hybrid implants for peripheral nerve regeneration. *Polymers (Basel).* 2021; 13 (5): 775. DOI: 10.3390/polym13050775.
- Park D, Kim D, Park SJ, et al. Micropattern-based nerve guidance conduit with hundreds of microchannels and stem cell recruitment for nerve regeneration. *NPJ Regen Med.* 2022; 7 (1): 62. DOI: 10.1038/s41536-022-00257-0.
- Sanchez Rezza A, Kulahci Y, Gorantla VS, Zor F, Drzeniek NM. Implantable biomaterials for peripheral nerve regeneration: technology trends and translational tribulations. *Front Bioeng Biotechnol.* 2022; 10: 863969. DOI: 10.3389/fbioe.2022.863969.
- Tao J, Hu Y, Wang S, Zhang J, Liu X, Gou Z, et al. A 3D-engineered porous conduit for peripheral nerve repair. *Sci Rep.* 2017; 7: 46038. DOI: 10.1038/srep46038.
- Sharifi M, Kamalabadi-Farahani M, Salehi M, et al. Recent perspectives on the synergy of mesenchymal stem cells with micro/nano strategies in peripheral nerve regeneration: a review. *Front Bioeng Biotechnol.* 2024; 12: 1401512. DOI: 10.3389/fbioe.2024.1401512.
- Perrelle JM, Boreland AJ, Gamboa JM, Gowda P, Murthy NS. Biomimetic strategies for peripheral nerve injury repair: an exploration of microarchitecture and cellularization. *Biomed Mater Devices.* 2023; 1 (1): 21–37. DOI: 10.1007/s44174-022-00039-8.
- Vijayavenkataraman S. Nerve guide conduits for peripheral nerve injury repair: a review on design, materials and fabrication methods. *Acta Biomater.* 2020; 106: 54–69. DOI: 10.1016/j.actbio.2020.02.003.
- Antonova OY, Kochetkova OY, Taylakov ME, Kanev IL. ECM-mimetic nanofibrous scaffolds for stimulation of dorsal root ganglia axon guidance and Schwann cell maturation. *ACS Appl Bio Mater.* 2025; 8 (10): 9480–95. DOI: 10.1021/acsabm.5c01600.
- Antonova OY, Kochetkova OY, Shlyapnikov YM. ECM-mimetic nylon nanofiber scaffolds for neurite growth guidance. *Nanomaterials (Basel).* 2021; 11 (2): 516. DOI: 10.3390/nano11020516.
- Антонова О. Ю., Канев И. Л., Кочеткова О. Ю., Райхман Е. В. Искусственный нервный кондукт с наполнителем из волоконистого наноматериала. Патент РФ RU226161U1. Заявл. 09.08.2023; опубл. 23.05.2024.
- Антонова О. Ю., Райхман Е. В., Кочеткова О. Ю., Канев И. Л. Нервные кондукты из синтетических биосовместимых полимеров. *Известия Института инженерной физики.* 2023; 4 (70): 86–92.
- Мирошникова П. К., Лյондуп А. В., Бацаленко Н. П., Крашенинников М. Е., Занг Ю., Фельдман Н. Б., Береговых В. В. Перспективные нервные кондукты для стимуляции регенерации поврежденных периферических нервов. *Вестник РАМН.* 2018; 6.
- Jiang Z, Zhang Y, Wang Y, et al. Multichannel nerve conduit based on chitosan derivatives for peripheral nerve regeneration and Schwann cell survival. *Carbohydr Polym.* 2023; 301 (Pt B): 120327. DOI: 10.1016/j.carbpol.2022.120327.
- Puranik N, Tiwari S, Kumari M, et al. Advanced bioactive polymers and materials for nerve repair: strategies and mechanistic insights. *J Funct Biomater.* 2025; 16 (7): 255. DOI: 10.3390/jfb16070255.
- Wang X, Fu X, Luo D, Hou R, Li P, Chen Y, et al. 3D printed high-precision porous scaffolds prepared by fused deposition modeling induce macrophage polarization to promote bone regeneration. *Biomed Mater.* 2024; 19 (3): 035006. DOI: 10.1088/1748-605X/ad2ed0.
- Nocera G, Jacob C. Mechanisms of Schwann cell plasticity involved in peripheral nerve repair after injury. *Cell Mol Life Sci.* 2020; 77 (20): 3977–89. DOI: 10.1007/s00018-020-03516-9.
- Stocco E, Barbon S, Zamuner A, et al. Self-assembling peptides for sciatic nerve regeneration: a review of conduit microenvironment modeling strategies in preclinical studies. *Front Cell Dev Biol.* 2025; 13: 1637189. DOI: 10.3389/fcell.2025.1637189.
- Sandoval-Castellanos AM, Claeysens F, Haycock JW. Biomimetic surface delivery of NGF and BDNF to enhance neurite outgrowth. *Biotechnol Bioeng.* 2020; 117 (10): 3124–35. DOI: 10.1002/bit.27466.

References

- Fornasari BE, Carta G, Gambarotta G, Raimondo S. Natural-based biomaterials for peripheral nerve injury repair. *Front Bioeng Biotechnol.* 2020; 8: 554257. DOI: 10.3389/fbioe.2020.554257.
- Zhang M, Li C, Zhou LP, Pi W, Zhang PX. Polymer scaffolds for biomedical applications in peripheral nerve reconstruction. *Molecules.* 2021; 26 (9): 2712. DOI: 10.3390/molecules26092712.
- Kaplan B, Levenberg S. The role of biomaterials in peripheral nerve and spinal cord injury: a review. *Int J Mol Sci.* 2022; 23 (3): 1244. DOI: 10.3390/ijms23031244.

1244. DOI: 10.3390/ijms23031244.
4. Li R, Liu Z, Pan Y, Chen L, Zhang Z, Lu L. Peripheral nerve injuries treatment: a systematic review. *Cell Biochem Biophys*. 2014; 68 (3): 449–54. DOI: 10.1007/s12013-013-9742-1.
 5. Karumbaiah L. Neural tissue engineering. In: *Neural Engineering*. Berlin, Heidelberg: Springer; 2012. DOI: 10.1007/978-1-4614-5227-0_19.
 6. Duraku LS, Eberlin KR, Moore A, et al. Ten myths in nerve surgery. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2024; 12 (8): e6017. DOI: 10.1097/GOX.0000000000006017.
 7. Zhai X, Wang Y. Physical modulation and peripheral nerve regeneration: a literature review. *Cell Regen*. 2024; 13: 32. DOI: 10.1186/s13619-024-00215-9.
 8. Zheng F, Li R, He Q, et al. The electrostimulation and scar inhibition effect of chitosan/oxidized hydroxyethyl cellulose/reduced graphene oxide/asiaticoside liposome based hydrogel on peripheral nerve regeneration in vitro. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2020; 109: 110560. DOI: 10.1016/j.msec.2019.110560.
 9. Wan T, Li QC, Zhang FS, et al. Biomimetic ECM nerve guidance conduit with dynamic 3D interconnected porous network and sustained IGF-1 delivery for enhanced peripheral nerve regeneration and immune modulation. *Mater Today Bio*. 2024; 30: 101403. DOI: 10.1016/j.mtbio.2024.101403.
 10. Wan T, Wang YL, Zhang FS, et al. The porous structure of peripheral nerve guidance conduits: features, fabrication, and implications for peripheral nerve regeneration. *Int J Mol Sci*. 2023; 24 (18): 14132. DOI: 10.3390/ijms241814132.
 11. Woodruff MA, Huttmacher DW. The return of a forgotten polymer—Polycaprolactone in the 21st century. *Prog Polym Sci*. 2010; 35 (10): 1217–56. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2010.04.002.
 12. Panahi-Joo Y, Karkhaneh A, Nourinia A, Abd-Emami B, Negahdari B, Renaud P, et al. Design and fabrication of a nanofibrous polycaprolactone tubular nerve guide for peripheral nerve tissue engineering using a two-pole electrospinning system. *Biomed Mater (Bristol)*. 2016; 11 (2): 025017. DOI: 10.1088/1748-6041/11/2/025017.
 13. Nawrotek K, Makiewicz M, Zawadzki D. Fabrication and characterization of polycaprolactone/chitosan-hydroxyapatite hybrid implants for peripheral nerve regeneration. *Polymers (Basel)*. 2021; 13 (5): 775. DOI: 10.3390/polym13050775.
 14. Park D, Kim D, Park SJ, et al. Micropattern-based nerve guidance conduit with hundreds of microchannels and stem cell recruitment for nerve regeneration. *NPJ Regen Med*. 2022; 7 (1): 62. DOI: 10.1038/s41536-022-00257-0.
 15. Sanchez Rezza A, Kulahci Y, Gorantla VS, Zor F, Drzeniek NM. Implantable biomaterials for peripheral nerve regeneration: technology trends and translational tribulations. *Front Bioeng Biotechnol*. 2022; 10: 863969. DOI: 10.3389/fbioe.2022.863969.
 16. Tao J, Hu Y, Wang S, Zhang J, Liu X, Gou Z, et al. A 3D-engineered porous conduit for peripheral nerve repair. *Sci Rep*. 2017; 7: 46038. DOI: 10.1038/srep46038.
 17. Sharifi M, Kamalabadi-Farahani M, Salehi M, et al. Recent perspectives on the synergy of mesenchymal stem cells with micro/nano strategies in peripheral nerve regeneration: a review. *Front Bioeng Biotechnol*. 2024; 12: 1401512. DOI: 10.3389/fbioe.2024.1401512.
 18. Perrelle JM, Boreland AJ, Gamboa JM, Gowda P, Murthy NS. Biomimetic strategies for peripheral nerve injury repair: an exploration of microarchitecture and cellularization. *Biomed Mater Devices*. 2023; 1 (1): 21–37. DOI: 10.1007/s44174-022-00039-8.
 19. Vijayavenkataraman S. Nerve guide conduits for peripheral nerve injury repair: a review on design, materials and fabrication methods. *Acta Biomater*. 2020; 106: 54–69. DOI: 10.1016/j.actbio.2020.02.003.
 20. Antonova OY, Kochetkova OY, Taylakov ME, Kanev IL. ECM-mimetic nanofibrous scaffolds for stimulation of dorsal root ganglia axon guidance and Schwann cell maturation. *ACS Appl Bio Mater*. 2025; 8 (10): 9480–95. DOI: 10.1021/acsabm.5c01600.
 21. Antonova OY, Kochetkova OY, Shlyapnikov YM. ECM-mimetic nylon nanofiber scaffolds for neurite growth guidance. *Nanomaterials (Basel)*. 2021; 11 (2): 516. DOI: 10.3390/nano11020516.
 22. Antonova OYu, Kanev IL, Kochetkova OYu, Rajhman EV. Iskusstvennyj nervnyj kondukt s napolnitelem iz voloknistogo nanomateriala. Patent RF RU226161U1. Zayavl. 09.08.2023; opubl. 23.05.2024. Russian.
 23. Antonova OYu, Rajhman EV, Kochetkova OYu, Kanev IL. Nervnye konduity iz sinteticheskikh biosovmestimyh polimerov. *Izvestiya Instituta inzhenernoj fiziki*. 2023; 4 (70): 86–92. Russian.
 24. Miroshnikova PK, Lyundup AV, Bacalenko NP, Krashennikov ME, Zang Yu, Fel'dman NB, et al. Perspektivnye nervnye konduity dlya stimulyacii regeneracii povrezhdennyh perifericheskikh nervov. *Vestnik RAMN*. 2018; 6. Russian.
 25. Jiang Z, Zhang Y, Wang Y, et al. Multichannel nerve conduit based on chitosan derivatives for peripheral nerve regeneration and Schwann cell survival. *Carbohydr Polym*. 2023; 301 (Pt B): 120327. DOI: 10.1016/j.carbpol.2022.120327.
 26. Puranik N, Tiwari S, Kumari M, et al. Advanced bioactive polymers and materials for nerve repair: strategies and mechanistic insights. *J Funct Biomater*. 2025; 16 (7): 255. DOI: 10.3390/jfb16070255.
 27. Wang X, Fu X, Luo D, Hou R, Li P, Chen Y, et al. 3D printed high-precision porous scaffolds prepared by fused deposition modeling induce macrophage polarization to promote bone regeneration. *Biomed Mater*. 2024; 19 (3): 035006. DOI: 10.1088/1748-605X/ad2ed0.
 28. Nocera G, Jacob C. Mechanisms of Schwann cell plasticity involved in peripheral nerve repair after injury. *Cell Mol Life Sci*. 2020; 77 (20): 3977–89. DOI: 10.1007/s00018-020-03516-9.
 29. Stocco E, Barbon S, Zamuner A, et al. Self-assembling peptides for sciatic nerve regeneration: a review of conduit microenvironment modeling strategies in preclinical studies. *Front Cell Dev Biol*. 2025; 13: 1637189. DOI: 10.3389/fcell.2025.1637189.
 30. Sandoval-Castellanos AM, Claeysens F, Haycock JW. Biomimetic surface delivery of NGF and BDNF to enhance neurite outgrowth. *Biotechnol Bioeng*. 2020; 117 (10): 3124–35. DOI: 10.1002/bit.27466.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ, ПРОИСХОЖДЕНИЕ И ГЕОГРАФИЧЕСКОЕ РАСПРОСТРАНЕНИЕ РЕДКИХ ЕВРАЗИЙСКИХ ГАПЛОТИПОВ ГЕНА АТМ

М. В. Олькова¹✉, С. М. Кошель², Г. Ю. Пономарев¹, А. А. Алимов¹¹ Медико-генетический научный центр имени Н. П. Бочкова, Москва, Россия² Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия

Изучение эволюционной изменчивости и географической распространенности гаплотипов гена АТМ в пределах Евразии дает возможность использовать эти данные при прогнозировании распространения заболеваний, ассоциированных с входящими в состав гаплотипов аллелями. Целью работы было провести поиск уникальных для территории Евразии гаплотипов гена АТМ на основе панели 28 полиморфных локусов, определяющих два основных «инь-ян»-гаплотипа. Исследование выполнено на основе данных об индивидуальных генотипах 28 локусов гена АТМ в 41 группе коренных народов Евразии. Идентификацию гаплотипов осуществляли с помощью программного обеспечения Haploview 4.1. Филогенетический анализ выполнен в среде RStudio посредством пакетов pegas и geneHapR. Картографическая визуализация частот гаплотипов гена АТМ реализована с использованием картографического пакета GeneGeo. Гаплотип H7j идентифицирован у автохтонных народов Северной Евразии, что свидетельствует о его локализованном происхождении. Для H7i выявлен частотный максимум среди финно-угорских народов севера и коренных народов северных территорий Евразии. Максимальная распространенность гаплотипа H8j наблюдается у населения юга Китая и Японии, что, вероятно, указывает на место его возникновения. Оставшиеся гаплотипы являются редкими и характерны для небольших географических регионов: H6j встречается у жителей Азии, H8i — Закавказья, H9i — в двух метагруппах народов Восточной Европы. Полученные данные свидетельствуют о наличии специфических для народонаселения Евразии гаплотипов гена АТМ, подчеркивают вклад внутригенной рекомбинации в формировании гаплотипического разнообразия гена и акцентируют важность географического и демографического контекста в сохранении и распространении отдельных генетических вариантов.

Ключевые слова: АТМ, гаплотипы, инь-ян, Евразия, филогения, геногеография**Финансирование:** исследование выполнено в рамках Государственного задания для ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н. П. Бочкова».**Благодарности:** авторы благодарят доноров образцов ДНК и «Биобанк Северной Евразии» за предоставленный материал для исследования.**Вклад авторов:** М. В. Олькова — сбор и статистическая обработка данных, филогенетический анализ, картографический анализ, подготовка текста статьи; С. М. Кошель — картографический анализ; Г. Ю. Пономарев — статистическая обработка данных; А. А. Алимов — подготовка текста статьи, руководство исследованием.**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н. П. Бочкова» (протокол № 1 от 29 июня 2020 г.). Все участники исследования подписали информированное согласие; данные деперсонифицированы.✉ **Для корреспонденции:** Марина Викторовна Олькова
ул. Москворечье, д. 1, г. Москва, 115522, Россия; genetics@inbox.ru**Статья получена:** 03.04.2026 **Статья принята к печати:** 30.04.2026 **Опубликована онлайн:** 23.05.2026**DOI:** 10.24075/vrgmu.2026.023**Авторские права:** © 2026 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/>).

IDENTIFICATION, ORIGIN AND GEOGRAPHIC SPREAD OF RARE EURASIAN ATM HAPLOTYPES

Olkova MV¹✉, Koshel SM², Ponomarev GYu¹, Alimov AA¹¹ Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russia² Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

The exploration of ATM gene haplotype evolutionary variability and its geographic dissemination across Eurasia enables the utilization of these data to predict the distribution of diseases associated with alleles comprising these haplotypes. The study aimed to identify the ATM gene haplotypes unique to Eurasia based on the panel of 28 polymorphic loci determining two major “yin-yang” haplotypes. The analysis was conducted using individual genotype data for 28 ATM gene loci across 41 groups of indigenous Eurasian populations. Haplotypes were identified using the Haploview 4.1 software. Phylogenetic analysis was performed in RStudio using the pegas and geneHapR packages. Cartographic visualization of ATM haplotype frequencies was implemented using the GeneGeo cartographic package. The H7j haplotype was identified in indigenous peoples of North Eurasia, which suggests its localized origin. The maximum H7i frequency was reported for Finno-Ugric peoples of the north and indigenous peoples of the northern Eurasia. The highest H8j haplotype frequency is observed in populations of southern China and Japan, which probably indicates the place of its origin. The remaining haplotypes are rare, these are typical for small geographic regions: H6j is sporadically distributed across Asia, H8i is localized to Transcaucasia, and H9i is found in two meta-groups of Eastern European peoples. The data obtained suggest the presence of the ATM gene haplotypes specific for the population of Eurasia, emphasize the contribution of intragenic recombination in shaping the gene haplotype diversity, and highlight the importance of the geographic and demographic context for preservation and spread of distinct genetic variants.

Keywords: ATM, haplotypes, yin-yang, Eurasia, phylogeny, gene geography**Funding:** the study was conducted within the framework of the State Assignment for the Research Centre for Medical Genetics.**Acknowledgments:** the authors would like to thank DNA sample donors and Biobank of North Eurasia for biomaterial provided for the study.**Author contribution:** Olkova MV — data acquisition and statistical processing, phylogenetic analysis, cartographic analysis, manuscript writing; Koshel SM — cartographic analysis; Ponomarev GYu — statistical data processing; Alimov AA — manuscript writing, research management.**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the Research Centre for Medical Genetics (protocol No. 1 date 29 June 2020). All the subjects submitted the informed consent; the data were anonymized.✉ **Correspondence should be addressed:** Marina V. Olkova
Moskvorechye 1, Moscow, 115522, Russia; genetics@inbox.ru**Received:** 03.04.2026 **Accepted:** 30.04.2026 **Published online:** 23.05.2026**DOI:** 10.24075/brsmu.2026.023**Copyright:** © 2026 by the authors. **Licensee:** Progov 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/>).

Белковый продукт гена ATM (*ataxia-telangiectasia mutated*), играющий одну из ключевых ролей в регуляции клеточного цикла и репарации ДНК, является критически важным компонентом системы поддержания геномной стабильности. Гомозиготные или компаунд-гетерозиготные мутации в гене ATM приводят к развитию атаксии-телеангиэктазии — тяжелого наследственного синдрома, характеризующегося прогрессирующими неврологическими нарушениями, иммунодефицитом и повышенной предрасположенностью к злокачественным новообразованиям [1, 2]. Важно отметить, что гетерозиготные носители патогенных вариантов ATM также демонстрируют повышенный риск развития некоторых форм рака, в частности, рака молочной железы, что подчеркивает социальную и медицинскую значимость изучения генетического полиморфизма данного гена [3–5]. Современные исследования мутаций гена ATM, активно реализуемые в разных странах, проводятся как в группах онкологических больных (способствует изучению роли патогенных аллельных вариантов гена ATM в канцерогенезе), так и в когортах здоровых индивидов, что позволяет оценить распространенность носительства и выявить субклинические онкологические риски для совершенствования профилактических подходов [6–12].

Недавно проведенное генетическое исследование, включавшее анализ 3876 индивидов, представляющих 46 объединенных групп народов Евразии и Африки, выявило наличие протяженного блока неравновесного сцепления, состоящего из 28 высокочастотных полиморфных локусов, равномерно распределенных в пределах гена ATM, от 5'- до 3'-нетранслируемой области [4]. На основе анализа сцепления были идентифицированы 11 гаплотипов гена ATM, которые филогенетически разделились на две ветви, имеющие общее предковое происхождение: шесть гаплотипов отнесены к ветви I, а пять — к ветви J. Два наиболее распространенных гаплотипа этих ветвей (H6i и H5j), несущие взаимоисключающие аллельные варианты, так называемые гаплотипы «инь-ян» [13–15], являются доминирующими на территории Евразии и достигают суммарной частоты 93,7% [16]. Согласно современным представлениям, ветви I и J «инь-ян»-гаплотипов ATM сформировались в условиях длительной изоляции групп *Homo sapiens* на территории Африки на ранних этапах эволюции человека [14]. Последующая миграция привела к формированию существующего на данный момент распределения гаплотипов, наблюдаемого у современного коренного населения Африки. Однако распределение и частота гаплотипов ATM Евразии существенно отличаются от африканского континента. В частности, у коренного населения Евразии обнаружены лишь 5 из 11 известных на данный момент гаплотипов ATM, в то время как коренное население Африки сохранило полный спектр. Данные различия, по всей видимости, стали следствием дрейфа генов и отражают особенности миграционных процессов, происходивших при расселении человека из Африки. Детальный анализ генотипов, сформированных на основе гаплотипов ATM, показал, что в группах коренных народов Евразии преобладает гетерозиготный генотип по «инь-ян»-гаплотипам, что может быть обусловлено действием балансирующего отбора. Высокая частота гетерозигот по H6i и H5j гаплотипам, несущим взаимоисключающие аллели, предполагает возможность рекомбинации между гаплотипами «инь» и «ян» с последующим закреплением рекомбинантных форм в изолированных

группах. Параллельно не исключены случаи «обратных» мутаций в отдельных маркерах гаплотипов «инь» и «ян» и последующее повышение их частоты благодаря дрейфу генов. Подобные мутантные и рекомбинантные формы, несущие новые комбинации аллелей, могут обладать уникальными функциональными свойствами, влияющими на экспрессию гена ATM, стабильность его мРНК и кинетическую активность белка ATM. Целью представленного исследования был целенаправленный поиск уникальных для территории Евразии гаплотипов гена ATM на основе панели 28 полиморфных локусов, определяющих два основных «инь-ян»-гаплотипа, а также проведение филогенетического анализа их происхождения и оценка географической распространенности среди изученного населения Евразии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Источники данных о генотипах индивидов

Анализ основан на данных генотипов 3372 индивидов, представляющих 41 объединенную группу коренных народов Евразии, сформированную по принципу общего происхождения. Данные получены из двух независимых источников:

1) 1975 образцов ДНК из 27 метагрупп народов, проживающих на территории России и сопредельных государств, были предоставлены «Биобанком Северной Евразии». В выборку были включены образцы ДНК неродственных индивидов при условии самоидентификации их и их предков с определенной этнической группой на протяжении не менее трех поколений. Размер отдельных выборок варьировал от 41 до 129 человек. Для каждого индивидуума из массива данных полногеномного генотипирования с использованием Infinium Omni5Exome BeadChip Kit (Illumina Inc.) были извлечены аллельные варианты 28 полиморфных маркеров гена ATM;

2) генотипы 1397 индивидов из 14 групп коренных народов Евразии были получены из публичного архива проекта 1000 Genomes Project Phase 3 (Ensembl). Размеры отдельных выборок составляли от 85 до 113 человек.

Список метагрупп коренного населения, их сокращенные наименования и размер выборок представлены в табл. 1.

Проверка качества типирования образцов ДНК и полиморфных локусов гена ATM

Исключение некачественно типированных образцов производили исходя из стандартного порогового значения GenCall score, равного 0,15. Расчет процента генотипирования маркеров и образцов ДНК и проверку равновесия Харди-Вайнберга для всех локусов ATM производили с помощью пакета *snpStats* в программном обеспечении RStudio. Из исследования были исключены полиморфные маркеры и образцы с качеством типирования менее 95%.

Статистическая обработка данных

Статистическая обработка и анализ данных выполнены в интегрированной среде разработки RStudio (версия 2025.09.1+401, Posit, США) для языка программирования R (версия 4.5.1), а также с применением Microsoft Excel (Microsoft Corporation, США).

Таблица 1. Список метагрупп коренных народов, вошедших в исследование

Сокращенное название	Метагруппа коренных народов	Размер выборки
ALT	Народы Алтая	83
ANC	Предковая популяция	–
BASH	Башкиры	44
BEV	Бенгальцы	86
BKHY	Буряты, хамниганы, якуты	59
BRNW	Белорусы и русские северо-запада европейской части России	61
CDX	Дайцы из Сишуанбаньна, Китай	93
CHB	Хань из Пекина, Китай	103
CHKI	Чукчи, коряки, ительмены	75
CHS	Южные хань, Китай	105
ECAU	Народы Северо-Восточного Кавказа	123
ESN	Эсан из Нигерии	99
ETRC	Народы Восточного Закавказья	87
FE	Народы Дальнего Востока	104
FIN	Финны	99
GBR	Британцы	91
GIH	Гуджаратцы (Индия)	103
GWD	Гамбийцы из Западного округа, Гамбия	113
IBS	Испанцы	107
ITU	Телугу (Индия)	102
JPT	Японцы	104
KHMN	Ханты, манси, ненцы	63
KHV	Вьетнамцы	99
KKUN	Казахи, каракалпаки, уйгуры, ногайцы	53
KLMN	Монголы (другие группы) и калмыки	79
KOUD	Коми и удмурты	84
KV	Карелы и вепсы	59
LWK	Лухья, Кения	99
MCH	Марийцы и чуваша	53
MKH	Монголы (халха)	49
MOR	Мордва	41
MSL	Менде, Сьерра-Леоне	85
PJL	Пенджабцы, Пакистан	96
RN	Русские севера европейской части России	84
RNAR	Русские севера Архангельской области	75
RSE	Русские юго-востока европейской части России	62
ST	Сибирские татары	68
STU	Тамилы Шри-Ланки	102
TAD	Таджики, памирцы, ягнобцы	72
TAT	Татары	60
TSI	Итальянцы	107
TUTO	Тувинцы и тофалары	63
URSW	Украинцы и русские юго-запада европейской части России	129
UZTK	Узбеки, туркмены, киргизы	98
WCAU	Народы Северо-Западного Кавказа	91
WTRC	Народы Западного Закавказья	56
YRI	Йоруба, Нигерия	108

Поиск и идентификация гаплотипов гена ATM

Определение структуры гаплотипов и расчет частот их встречаемости производили с использованием программного обеспечения *Haploview 4.1* (Broad Institute, США).

Гаплотипы определяли по «методу доверительных интервалов» (алгоритм Габриэля) при условии, что 95% пар полиморфных локусов внутри блока демонстрировали величину $D' > 0,8$. На основании реконструированных гаплотипов ATM расчет частот

ALLELE	rs188037	rs2283690	rs623660	rs90931	rs228392	rs72655	rs627418	rs664677	rs909261	rs404285	rs19972	rs599558	rs595747	rs909655	rs227081	rs227082	rs227084	rs227088	rs227070	rs227074	rs227075	rs425538	rs419716	rs227040	rs94143	rs227094	rs227092	rs4585	freq
	A/G	G/A	T/C	T/C	A/C	G/A	C/T	T/C	C/T	G/A	T/C	T/C	A/G	G/A	A/G	C/T	G/A	G/T	G/A	C/T	A/C	C/A	C/T	G/A	A/C	T/G	T/G		
H0	G	A	T	C	A	A	C	T	T	A	C	T	T	A	A	A	C	A	G	G	C	A	A	C	G	A	G	T	1
H2i	G	A	T	C	C	A	C	T	T	A	C	C	T	A	A	G	C	A	G	A	C	A	A	T	G	C	G	G	48
H3j	G	G	T	T	A	A	C	T	C	G	C	T	T	A	G	A	C	G	G	G	C	A	C	C	G	A	T	T	86
H4i	G	A	T	C	C	A	T	T	T	A	C	C	C	A	A	G	T	A	T	A	T	C	A	T	A	C	G	G	12
H5j	A	G	T	T	A	G	C	T	C	G	T	T	T	A	G	A	C	G	G	G	C	A	C	C	G	A	T	T	2651
H6i	G	A	C	C	C	A	T	C	T	A	C	C	C	G	A	G	T	A	T	A	T	C	A	T	A	C	G	G	2036
H6j	G	A	T	T	A	G	C	T	C	G	T	T	T	A	G	A	C	G	G	G	C	A	C	C	G	A	T	T	42
H7i	A	A	C	C	C	A	T	C	T	A	C	C	C	G	A	G	T	A	T	A	T	C	A	T	A	C	G	G	67
H7j	A	G	T	T	A	G	C	T	C	G	T	T	T	A	G	A	C	G	G	G	C	A	C	C	G	A	G	T	48
H8i	G	A	C	T	C	A	T	C	T	A	C	C	C	G	A	G	T	A	T	A	T	C	A	T	A	C	G	G	12
H8j	A	G	T	T	A	G	C	C	T	A	C	T	T	A	G	A	C	G	G	G	C	A	C	C	G	A	T	T	61
H9i	G	G	C	C	C	A	T	C	T	A	C	C	C	G	A	G	T	A	T	A	T	C	A	T	A	C	G	G	14

Рис. 1. Гаплотипы гена АТМ, встречающиеся в Евразии

генотипов в исследуемых группах был выполнен с применением пакета *plyr* [17] для R.

Филогенетический анализ

Филогенетический анализ был выполнен с помощью R-пакетов *pegas* [18] и *geneHapR* [19] согласно «принципу экономии». Входные файлы содержали данные о частотах гаплотипов в группах, умноженных на коэффициент 1000.

Картографический анализ

Картографическую визуализацию частот гаплотипов и генотипов гена АТМ внутри каждой из групп проводили с помощью оригинального картографического пакета GeneGeo [20], разработанного под руководством Е. В. Балановской и О. П. Балановского. Расчеты частот для всей картографируемой территории выполнены методом средневзвешенной интерполяции с весовой функцией, обратно пропорциональной кубу расстояния и радиусом влияния 4000 км по формуле:

$$f(p) = \frac{\sum f_i w_i}{\sum w_i}, \quad w_i = |p - p_i|^{-3},$$

где p — произвольная точка картографируемой территории, $f(p)$ — значение частоты в точке p , p_i — точки географической локализации метагрупп (узлы интерполяции), f_i — значение частоты в точке p_i , w_i — вес i -й точки, а суммирование ведется по всем точкам p_i , попадающим в круг радиуса 4000 км с центром в точке p . С целью избежать влияния искажений проекции карты на расчеты все расстояния в процессе интерполяции вычисляли на сфере. Для создания карт использовали тройную проекцию Винкеля с центральным меридианом 60° в.д.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на основе данных об индивидуальных генотипах 28 локусов гена АТМ в 41 группе коренных народов Евразии. Все полиморфные маркеры в метагруппах соответствовали принципу равновесия Харди-Вайнберга. Выявлено шесть уникальных гаплотипов (рис. 1–4). Два из них, H6j и H8j, принадлежащие к J-ветви, с высокой вероятностью, возникли в результате кроссинговера между двумя наиболее частыми «инь-ян»-гаплотипами ветвей J и I — H5j и H6i (рис. 3А, рис. 4А). H6j и H8j были найдены исключительно в группах народов азиатского происхождения. Остальные четыре гаплотипа — H7j, H7i, H8i, H9i — отличаются от канонических «инь» и «ян» единичными нуклеотидными заменами и, следовательно, могут быть следствием как единичных точечных мутаций, так и рекомбинационного события (табл. 2).

В северо-восточной Европе были обнаружены два регион-специфичных гаплотипа, принадлежащих к разным ветвям: H7i (производный от ветви I) и H7j (производный от ветви J). Гаплотип H7i также встречается в Восточной Азии и у населения Финляндии, тогда как H7j, за исключением коренных народов Северной Евразии, нигде более не идентифицирован.

Картографический анализ показал, что гаплотип H7i (рис. 4Б), отличающийся от H6i заменой G на A в rs189037, вероятно, возник в прибрежных регионах севера Евразии у народов финно-угорского происхождения. В дальнейшем он распространился преимущественно на восток (вплоть до тихоокеанского побережья) и юг (до Альпийско-Гималайского горного пояса), и в меньшей степени — на запад. Максимальная частота встречаемости гаплотипа H7i зафиксирована в метагруппе «ханты и манси» (12,5%), а также в географически близкой группе «коми и удмурты» (7,5%). Частота ~5,5% наблюдается в метагруппах «тувинцы и тофалары» и «чукчи, коряки, ительмены». Гомозиготные

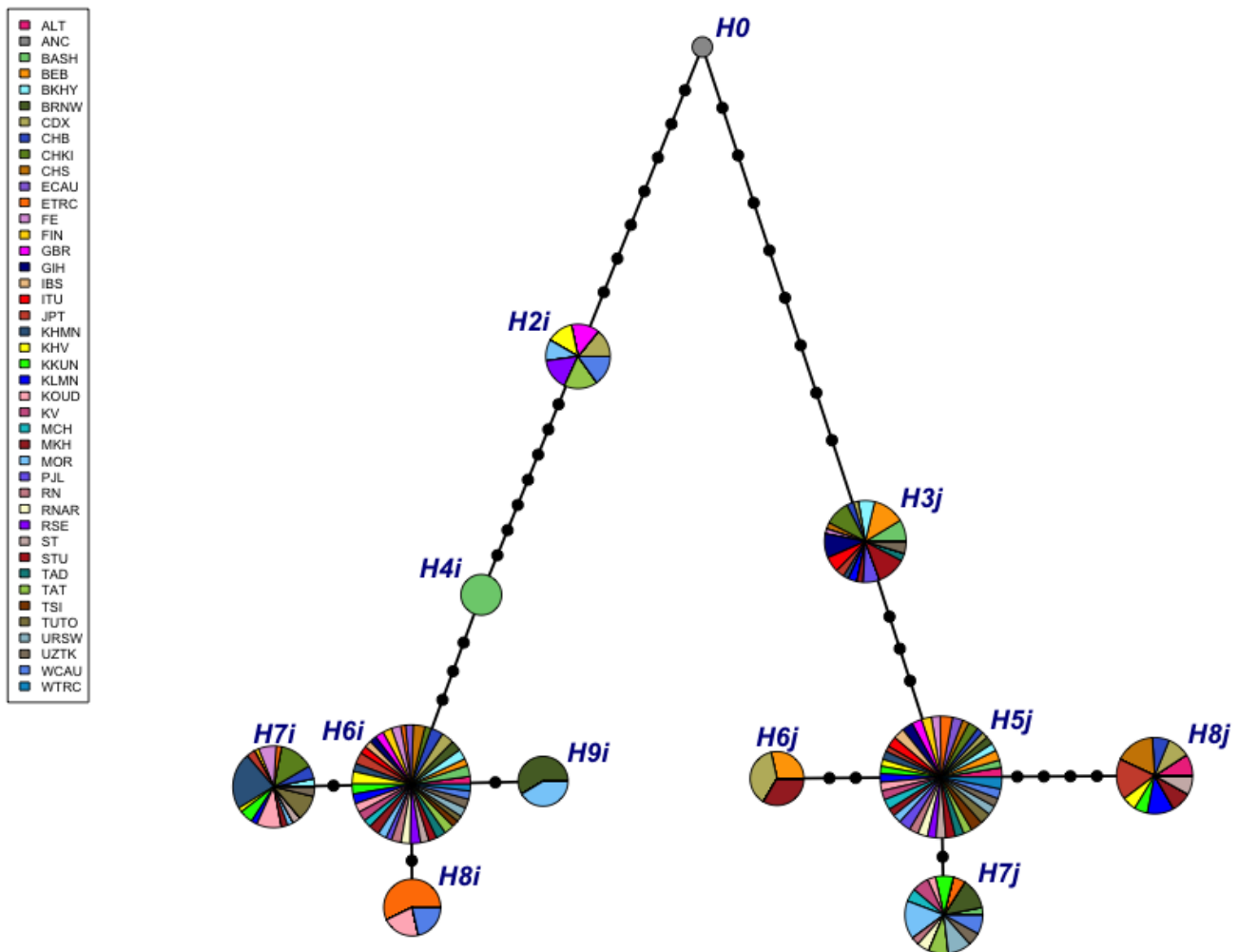


Рис. 2. Филогенетическая сеть гаплотипов гена *ATM*, встречающихся в Евразии

носители данного гаплотипа с частотой 1–2% были обнаружены в регионе его географического максимума у представителей тех же метагрупп («ханты и манси» и «коми и удмурты»).

Гаплотип *H8j* (рис. 3Г) отличается четырьмя нуклеотидными заменами (Т→С, С→Т, G→А, Т→С) в локусах rs664677, rs609261, rs645485 и rs619972 от гаплотипа *H5j*, в котором данные локусы занимают соседние 8–11 позиции. Данные замены соответствуют аллелям гаплотипа *H6i*, более распространенного в Восточной Азии. Наибольшую частоту *H8j* имеет в популяции хань южного побережья Китая и в Японии — ~6%. Картографический анализ выявил градиентное распространение *H8j* среди всех исследованных народов Восточной Азии, а также в метагруппах Северной Евразии азиатского происхождения («монголы-халха», «другие группы монголов и калмыки», «алтайцы», «сибирские татары» и «казахи, каракалпаки, уйгуры, ногайцы»), где данный гаплотип наблюдался с частотой от 2 до 4%.

Пространственное распределение гаплотипов *H7i* и *H8j*, характеризующееся отчетливым локальным максимумом частоты и ее прогрессивным убыванием по мере увеличения расстояния от него, с высокой вероятностью, указывает на действие эффекта основателя и длительную изоляцию предковых носителей данных гаплотипов. Сочетание относительно высоких наблюдаемых частот в максимумах и широкого географического распространения свидетельствует в пользу древнего происхождения данных гаплотипов.

Гаплотип *H7j* (рис. 3В), образованный заменой Т на G в локусе rs227092 гаплотипа *H5j*, можно охарактеризовать как «восточноевропейский», поскольку максимумы его частоты наблюдаются в Мордовии и метагруппе «белорусы и русские Северо-Запада европейской части России» (6,2 и 5% соответственно). *H7j* широко распространен у коренных народов востока Европы вплоть до Урала и Кавказа.

Достаточно редкий гаплотип *H8i* (рис. 4в), образованный заменой цитозина на тимин в положении rs600931, обнаруживается преимущественно у жителей Кавказа (частота 1–3%), что может указывать на его локальное распространение в условиях горной изоляции. *H8i* также был обнаружен у единичного представителя метагруппы «коми и удмурты».

Редкий «азиатский» гаплотип *H6j* (частота ~1–2%) встречается у дайцев (юго-запад Китая), монголов-халха из Монголии, а также у выходцев из Бангладеша (рис. 3Б). Он образован заменой аллелей А и G (характерных для *H5j*) на альтернативные аллели G и А (характерные для *H6i*) в соседних сцепленных локусах rs189037 и rs228590.

Гаплотип *H9i* (рис. 4Г) был обнаружен лишь у единичных представителей двух восточно-европейских групп народов — «белорусы и русские Северо-Запада европейской части России» и «мордва» (частота 1–2%). *H9i* отличается заменой аденина на гуанин в положении rs228590 гаплотипа *H6i*.

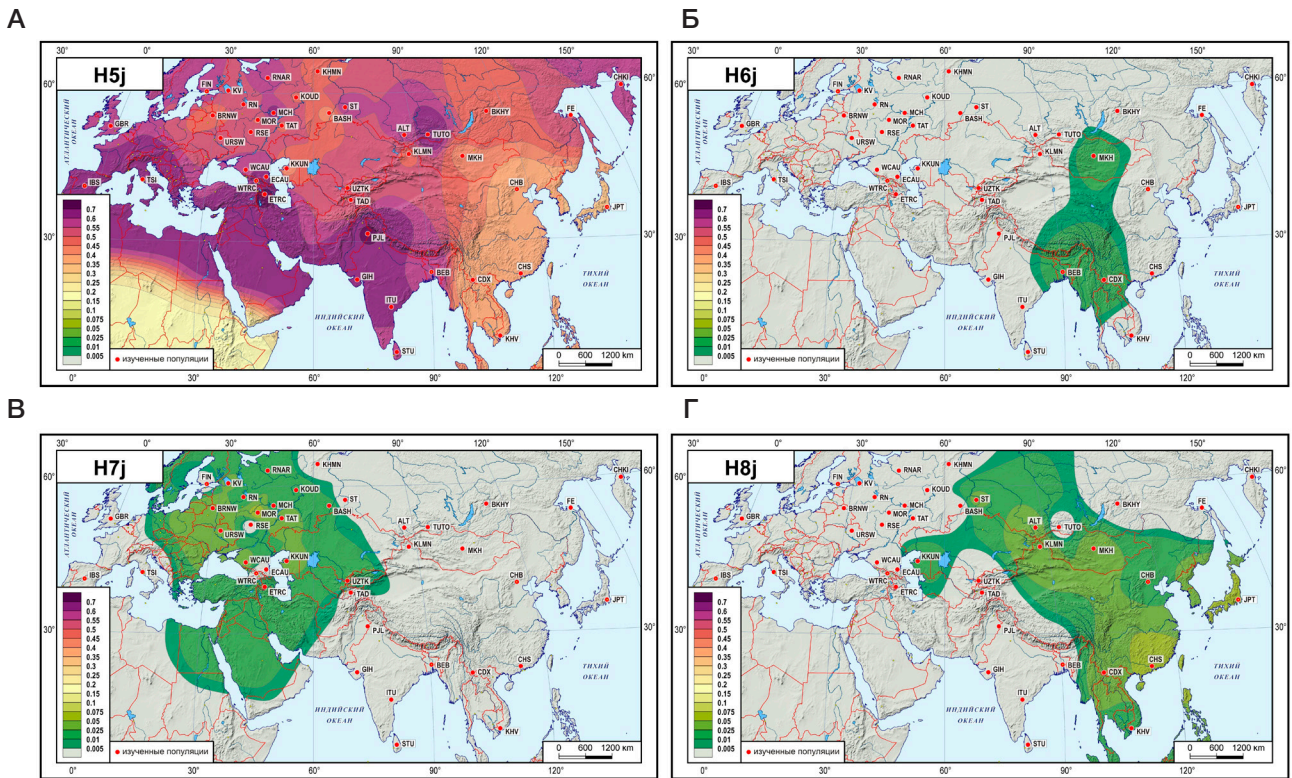


Рис. 3. Географическая распространенность гаплотипов ветви J гена ATM
ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В предшествующих исследованиях нами было установлено, что ген ATM характеризуется наличием консервативного блока неравновесия по сцеплению, образованного 28 внеэкзонными локусами, формирующими специфический гаплотип. Популяционный анализ выборок Евразии и

Африки продемонстрировал, что аллельные варианты данного гаплотипа распределены в соответствии с концепцией «инь-ян». Филогенетический анализ 11 выявленных гаплотипов ATM подтвердил существование двух независимых эволюционных ветвей, происходящих от предкового гаплотипа. При этом в изученных выборках за пределами африканского континента доминирующими

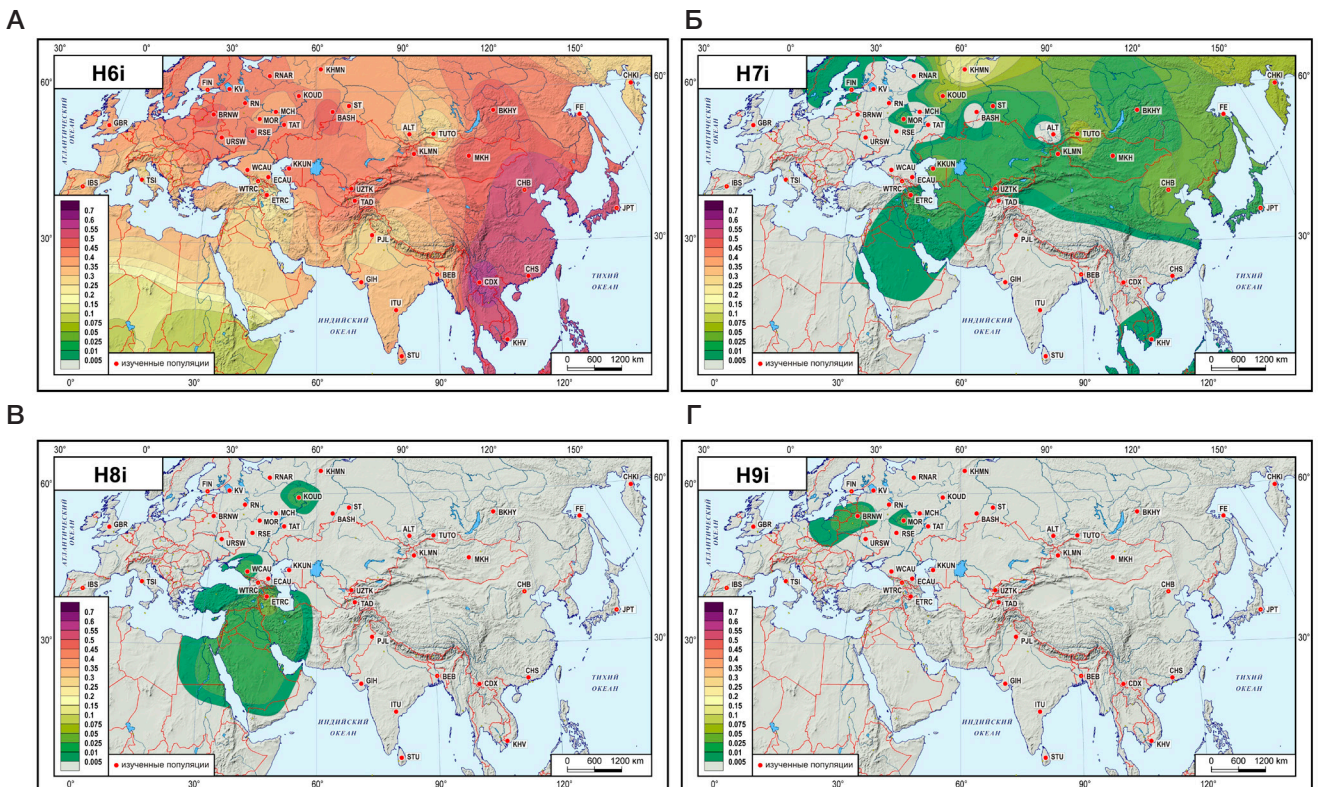


Рис. 4. Географическая распространенность гаплотипов ветви I гена ATM

Таблица 2. Сравнение аллельного состава «инь-ян» и «евразийских» гаплотипов ATM

Локусы гаплоглока	Сходство с гаплотипами «инь-ян»					
	H6i/H7i	H6i/H8i	H6i/H9i	H5j/H6j	H5j/H7j	H5j/H8j
rs189037	РЛ	+	+	РЛ	+	+
rs228590	+	+	РЛ	РЛ	+	+
rs623860	+	+	+	+	+	+
rs600931	+	РЛ	+	+	+	+
rs228592	+	+	+	+	+	+
rs672655	+	+	+	+	+	+
rs627418	+	+	+	+	+	+
rs664677	+	+	+	+	+	РЛ
rs609261	+	+	+	+	+	РЛ
rs645485	+	+	+	+	+	РЛ
rs619972	+	+	+	+	+	РЛ
rs599558	+	+	+	+	+	+
rs595747	+	+	+	+	+	+
rs609655	+	+	+	+	+	+
rs227061	+	+	+	+	+	+
rs227062	+	+	+	+	+	+
rs227064	+	+	+	+	+	+
rs227068	+	+	+	+	+	+
rs227070	+	+	+	+	+	+
rs227074	+	+	+	+	+	+
rs227075	+	+	+	+	+	+
rs425538	+	+	+	+	+	+
rs419716	+	+	+	+	+	+
rs227040	+	+	+	+	+	+
rs664143	+	+	+	+	+	+
rs227094	+	+	+	+	+	+
rs227092	+	+	+	+	РЛ	+
rs4585	+	+	+	+	+	+

Примечание: РЛ — предположительно рекомбинантный или мутантный локус; + — совпадающие в «инь-ян» и сравниваемом гаплотипах аллели; в названии столбца слева — гаплотип «инь-ян», к ветви которого относится сравниваемый гаплотип, указанный через черту справа.

во всех человеческих популяциях оказались гаплотипы H6i (частота от 21 до 56%) и H5j (от 32 до 72%). Повсеместно на территории Евразии наблюдалась высокая частота гетерозигот по указанным гаплотипам, несущим взаимоисключающие аллели, что послужило отправной точкой настоящего исследования, целью которого являлся поиск возможных рекомбинаций между «инь»- и «ян»-гаплотипами, а также выявление редких евразийских гаплотипов гена ATM. Таковые были обнаружены в ходе данной работы.

Проведенный нами картографический анализ показал, что уникальные ATM гаплотипы преимущественно сконцентрированы в периферийных и зачастую изолированных регионах, что подчеркивает ключевую роль демографических факторов в их сохранении.

В заключение можно сказать, что гаплотипы как группы генетических маркеров, наследуемые совместно, выступают в качестве «генетических подписей», отражающих историю народов и их взаимосвязи на протяжении тысячелетий. Изучение их распределения позволяет реконструировать древние пути расселения и выявить события, связанные с изменениями потоков генов, которые сформировали современный генетический ландшафт Евразии.

Наблюдаемая дивергенция гаплотипов ATM, выражающаяся в разделении на «инь»- и «ян»-варианты от общего предкового типа, свидетельствует о древнем эволюционном событии, оставившем отчетливый след в генетической структуре современных народов континента. Предположительно, такая дивергенция поддерживается действием балансирующего отбора, что, однако, требует дальнейшего изучения.

Критически важно, что точки рекомбинации, идентифицированные в данном исследовании, локализованы в некодирующих областях гена ATM, в непосредственной близости от регуляторных последовательностей и полиморфных локусов, ассоциированных с предрасположенностью к злокачественным новообразованиям. Это позволяет допустить, что вариации в экспрессии белкового продукта гена ATM могут быть обусловлены специфическими сочетаниями аллельных вариантов в составе гаплотипа у конкретного индивидуума. Следовательно, изучение гаплотипов ATM представляет значительный интерес не только для исследования эволюционных процессов, но и для медицинской генетики, в частности, для оценки индивидуальных рисков развития онкологических заболеваний и разработки персонализированных стратегий профилактики и терапии.

ВЫВОДЫ

Проведенное исследование демонстрирует выраженную генетическую и географическую специфичность гаплотипов гена ATM в группах коренных народов Евразии. Идентифицированные уникальные гаплотипы (H6j, H7j, H8j, H7i, H8i, H9i) характеризуются четкой географической привязкой и максимальной концентрацией в периферийных, зачастую демографически изолированных регионах, что подтверждает определяющую роль внутригенной рекомбинации, генетического дрейфа и историко-демографических процессов в формировании и сохранении региональных генетических профилей. Клинико-генетическая значимость полученных данных обусловлена локализацией возможных точек рекомбинации в некодирующих областях гена, непосредственно прилегающих к регуляторным последовательностям и полиморфным локусам, ассоциированным с

предрасположенностью к злокачественным новообразованиям. Это позволяет предположить, что специфические гаплотипы могут модулировать экспрессию гена ATM, влияя на индивидуальный онкологический риск. Таким образом, изучение архитектуры гаплотипов ATM представляет двойную ценность: оно углубляет понимание эволюционных механизмов формирования генетического разнообразия и открывает перспективы для развития персонализированной медицины, в частности, для стратификации риска развития рака и разработки таргетных превентивных стратегий. Дальнейшие исследования должны быть направлены на функциональную валидацию выявленных вариантов, вошедших в гаплотипы, уточнение эволюционных механизмов поддержания «инь-ян»-диморфизма, а также на интеграцию данных о частотах встречаемости выявленных гаплотипов в разных группах коренных народов в клинические модели прогнозирования и персонализированной терапии.

Литература

1. Amirifar P, Ranjouri MR, Lavin M, Abolhassani H, Yazdani R, Aghamohammadi A. Ataxia-telangiectasia: epidemiology, pathogenesis, clinical phenotype, diagnosis, prognosis and management. *Expert Review of Clinical Immunology*. 2020; 16 (9): 859–71. DOI: 10.1080/1744666X.2020.1810570.
2. Асекретова Т. В., Андержанова Л. Х., Леонтьева М. Е., Родина Ю. А., Панферова А. В., Алексенко М. Ю., и др. Характеристика клинических и лабораторных проявлений в группе пациентов с синдромом атаксии-телеангиэктазии. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии*. 2022; 21 (3): 47–55. DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-47-55.
3. Lee SA, Lee KM, Lee SJ, Yoo KY, Park SK, Noh DY, et al. Antioxidant Vitamins Intake, Ataxia Telangiectasia Mutated (ATM) Genetic Polymorphisms, and Breast Cancer Risk. *Nutrition and Cancer*. 2010; 62 (8): 1087–94. DOI:10.1080/01635581.2010.492088.
4. Wang S, Zhang Y, Chen M, Wang Y, Feng Y, Xu Z, et al. Association of genetic variants in ATR-CHEK1 and ATM-CHEK2 pathway genes with risk of colorectal cancer in a Chinese population. *Oncotarget*. 2018; 9 (42): 26616–24. DOI: 10.18632/oncotarget.24299.
5. Mou J, Hu T, Wang Z, Chen W, Wang Y, Zhang W. ATM gene polymorphisms are associated with poor prognosis of non-small cell lung cancer receiving radiation therapy. *Aging*. 2020; 12 (8): 7465–79. DOI: 10.18632/aging.103094 PubMed PMID: 32329754.
6. Suspitsin E, Sokolenko A, Bizin I, Tumakova A, Guseva M, Sokolova N, et al. ATM mutation spectrum in Russian children with ataxia-telangiectasia. *European Journal of Medical Genetics*. 2020; 63 (1): 103630. DOI: 10.1016/j.ejmg.2019.02.003.
7. Podralska M, Dzikiewicz-Krawczyk A, Mosor M, Żurawek M, Iżykowska K, Słomski R, et al. The most frequent Polish ATM mutations are not susceptibility factors for tobacco-related cancers. *Arch Med Sci*. 2021; 17 (5): 1158–63. DOI: 10.5114/aoms.2020.94155.
8. Stankovic T, Kidd AMJ, Sutcliffe A, McGuire GM, Robinson P, Weber P, et al. ATM Mutations and Phenotypes in Ataxia-Telangiectasia Families in the British Isles: Expression of Mutant ATM and the Risk of Leukemia, Lymphoma, and Breast Cancer. *The American Journal of Human Genetics*. 1998; 62 (2): 334–45. DOI: 10.1086/301706. PubMed PMID: 9463314.
9. Fukunaga H, Taki Y, Prise KM. Diversity of ATM gene variants: a population-based genome data analysis for precision medicine. *Hum Genomics*. 2019; 13: 38. DOI: 10.1186/s40246-019-0234-2. PubMed PMID: 31443742; PubMed Central PMCID: PMC6708157.
10. Bu R, Siraj AK, Al-Rasheed M, Iqbal K, Azam S, Qadri Z, et al. Identification and characterization of ATM founder mutation in BRCA-negative breast cancer patients of Arab ethnicity. *Sci Rep*. 2023; 13 (1): 20924. DOI: 10.1038/s41598-023-48231-0.
11. Dalal Amandi AR, Jabbarpour N, Shiva S, Bonyadi M. Identification of Two Novel Pathogenic Variants of the ATM Gene in the Iranian-Azeri Turkish Ethnic Group by Applying Whole Exome Sequencing. *CG*. 2023; 24 (6): 345–53. DOI: 10.2174/0113892029268949231104165301.
12. Moslemi M, Vafaei M, Khani P, Soheili M, Nedaeinia R, Manian M, et al. The prevalence of ataxia telangiectasia mutated (ATM) variants in patients with breast cancer patients: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Cell Int*. 2021; 21: 474. DOI: 10.1186/s12935-021-02172-8. PubMed PMID: 34493284; PubMed Central PMCID: PMC8424893.
13. Zhang J, Rowe WL, Clark AG, Buetow KH. Genomewide Distribution of High-Frequency, Completely Mismatching SNP Haplotype Pairs Observed To Be Common across Human Populations. *The American Journal of Human Genetics*. 2003; 73 (5): 1073–81. DOI: 10.1086/379154.
14. Dutta R, Mainsah J, Yatskiv Y, Chakraborty S, Brennan P, Khuder B, et al. Intricacies in arrangement of SNP haplotypes suggest “Great Admixture” that created modern humans. *BMC Genomics*. 2017; 18 (1): 433. DOI: 10.1186/s12864-017-3776-5.
15. Curtis D, Amos W. The human genome harbours widespread exclusive yin yang haplotypes. *Eur J Hum Genet*. 2024; 32 (6): 691–6. DOI: 10.1038/s41431-023-01399-5.
16. Olkova MV, Koshel SM, Ponomarev GYu, Alimov AA. Phylogenetic relationships of ATM polymorphic loci haplotypes in Eurasian and African populations | bioRxiv [Internet]. [cited 2026 Mar 20]. Available from: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2025.05.10.652950v3.full>.
17. Wickham H. The Split-Apply-Combine Strategy for Data Analysis. *Journal of Statistical Software*. 2011; 40 (1): 1–29. <https://www.jstatsoft.org/v40/i01/>.
18. Paradis E. PEGAS: an R package for population genetics with an integrated-modular approach. *Bioinformatics*. 2010; 26: 419–20. DOI: 10.1093/bioinformatics/btp696.
19. Zhang R, Jia G, Diao X. GeneHapR: an R package for gene haplotypic statistics and visualization. *BMC Bioinformatics*. 2023; 24 (1): 199. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12859-023-05318-9>
20. Кошель С. М. Геоинформационные технологии в геногеографии. Современная географическая картография. 2012; с. 158–166.

References

1. Amirifar P, Ranjouri MR, Lavin M, Abolhassani H, Yazdani R, Aghamohammadi A. Ataxia-telangiectasia: epidemiology, pathogenesis, clinical phenotype, diagnosis, prognosis and management. *Expert Review of Clinical Immunology*. 2020; 16 (9): 859–71. DOI: 10.1080/1744666X.2020.1810570.
2. Asekretova TV, Anderzhanova LH, Leonteva ME, Rodina YuA, Panferova AV, Aleksenko MYu, i dr. Charakteristika klinicheskikh i laboratornykh proyavlenij v gruppe pacientov s sindromom ataksii-telangiektazii. *Voprosy gematologii/onkologii i immunopatologii v pediatrii*. 2022; 21 (3): 47–55. DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-47-55. Russian.
3. Lee SA, Lee KM, Lee SJ, Yoo KY, Park SK, Noh DY, et al. Antioxidant Vitamins Intake, Ataxia Telangiectasia Mutated (ATM) Genetic Polymorphisms, and Breast Cancer Risk. *Nutrition and Cancer*. 2010; 62 (8): 1087–94. DOI:10.1080/01635581.2010.492088.
4. Wang S, Zhang Y, Chen M, Wang Y, Feng Y, Xu Z, et al. Association of genetic variants in ATR-CHEK1 and ATM-CHEK2 pathway genes with risk of colorectal cancer in a Chinese population. *Oncotarget*. 2018; 9 (42): 26616–24. DOI: 10.18632/oncotarget.24299.
5. Mou J, Hu T, Wang Z, Chen W, Wang Y, Zhang W. ATM gene polymorphisms are associated with poor prognosis of non-small cell lung cancer receiving radiation therapy. *Aging*. 2020; 12 (8): 7465–79. DOI: 10.18632/aging.103094 PubMed PMID: 32329754.
6. Suspitsin E, Sokolenko A, Bizin I, Tumakova A, Guseva M, Sokolova N, et al. ATM mutation spectrum in Russian children with ataxia-telangiectasia. *European Journal of Medical Genetics*. 2020; 63 (1): 103630. DOI: 10.1016/j.ejmg.2019.02.003.
7. Podralska M, Dzikiewicz-Krawczyk A, Mosor M, Żurawek M, lżykowska K, Słomski R, et al. The most frequent Polish ATM mutations are not susceptibility factors for tobacco-related cancers. *Arch Med Sci*. 2021; 17 (5): 1158–63. DOI: 10.5114/aoms.2020.94155.
8. Stankovic T, Kidd AMJ, Sutcliffe A, McGuire GM, Robinson P, Weber P, et al. ATM Mutations and Phenotypes in Ataxia-Telangiectasia Families in the British Isles: Expression of Mutant ATM and the Risk of Leukemia, Lymphoma, and Breast Cancer. *The American Journal of Human Genetics*. 1998; 62 (2): 334–45. DOI: 10.1086/301706. PubMed PMID: 9463314.
9. Fukunaga H, Taki Y, Prise KM. Diversity of ATM gene variants: a population-based genome data analysis for precision medicine. *Hum Genomics*. 2019; 13: 38. DOI: 10.1186/s40246-019-0234-2. PubMed PMID: 31443742; PubMed Central PMCID: PMC6708157.
10. Bu R, Siraj AK, Al-Rasheed M, Iqbal K, Azam S, Qadri Z, et al. Identification and characterization of ATM founder mutation in BRCA-negative breast cancer patients of Arab ethnicity. *Sci Rep*. 2023; 13 (1): 20924. DOI: 10.1038/s41598-023-48231-0.
11. Dalal Amandi AR, Jabbarpour N, Shiva S, Bonyadi M. Identification of Two Novel Pathogenic Variants of the ATM Gene in the Iranian-Azeri Turkish Ethnic Group by Applying Whole Exome Sequencing. *CG*. 2023; 24 (6): 345–53. DOI: 10.2174/0113892029268949231104165301.
12. Moslemi M, Vafaei M, Khani P, Soheili M, Nedaeinia R, Manian M, et al. The prevalence of ataxia telangiectasia mutated (ATM) variants in patients with breast cancer patients: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Cell Int*. 2021; 21: 474. DOI: 10.1186/s12935-021-02172-8. PubMed PMID: 34493284; PubMed Central PMCID: PMC8424893.
13. Zhang J, Rowe WL, Clark AG, Buetow KH. Genomewide Distribution of High-Frequency, Completely Mismatching SNP Haplotype Pairs Observed To Be Common across Human Populations. *The American Journal of Human Genetics*. 2003; 73 (5): 1073–81. DOI: 10.1086/379154.
14. Dutta R, Mainsah J, Yatskiv Y, Chakraborty S, Brennan P, Khuder B, et al. Intricacies in arrangement of SNP haplotypes suggest “Great Admixture” that created modern humans. *BMC Genomics*. 2017; 18 (1): 433. DOI: 10.1186/s12864-017-3776-5.
15. Curtis D, Amos W. The human genome harbours widespread exclusive yin yang haplotypes. *Eur J Hum Genet*. 2024; 32 (6): 691–6. DOI: 10.1038/s41431-023-01399-5.
16. Olkova MV, Koshel SM, Ponomarev GYu, Alimov AA. Phylogenetic relationships of ATM polymorphic loci haplotypes in Eurasian and African populations | bioRxiv [Internet]. [cited 2026 Mar 20]. Available from: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2025.05.10.652950v3.full>.
17. Wickham H. The Split-Apply-Combine Strategy for Data Analysis. *Journal of Statistical Software*. 2011; 40 (1): 1–29. <https://www.jstatsoft.org/v40/i01/>.
18. Paradis E. PEGAS: an R package for population genetics with an integrated-modular approach. *Bioinformatics*. 2010; 26: 419–20. DOI: 10.1093/bioinformatics/btp696.
19. Zhang R, Jia G, Diao X. GeneHapR: an R package for gene haplotypic statistics and visualization. *BMC Bioinformatics*. 2023; 24 (1): 199. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12859-023-05318-9>
20. Koshel SM. Geoinformacionnye tekhnologii v genogeografii. *Sovremennaya geograficheskaya kartografiya*. 2012; s. 158–166. Russian.

ОЦЕНКА ИММУНОГЕННОСТИ ПРЕПАРАТОВ ПРОТИВ ВИРУСА ГРИППА НА ОСНОВЕ КЛАССИЧЕСКИХ И САМОАМПЛИФИЦИРУЮЩИХСЯ РНК

Д. А. Куньк¹, Е. П. Мазунина², Е. А. Мукашева², А. В. Игнатьева², Е. С. Кириллова², О. М. Курченко¹, Р. А. Иванов¹, В. А. Гушчин², В. В. Решетников¹✉

¹ Научно-технологический университет «Сириус», Сириус, Россия

² Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени Н. Ф. Гамалеи, Москва, Россия

Высокая изменчивость вируса гриппа и ограниченная гибкость инактивированных вакцин обуславливают необходимость в создании новых более эффективных профилактических препаратов. РНК-платформа — одна из наиболее перспективных для создания вакцин нового поколения против респираторных инфекций. Целью работы было сравнить иммуногенность двух экспериментальных препаратов на основе классической мРНК и самоамплифицирующейся РНК (саРНК), кодирующей гемагглютинин (HA) вируса гриппа A(H1N1)pdm09. Мышей линии BALB/c дважды иммунизировали РНК-препаратами в дозе 2 мкг с интервалом в 21 день. Уровень гуморального иммунного ответа оценивали в реакции торможения гемагглютинации. После второй иммунизации среднестатистические титры антител против гомологичного штамма A/Wisconsin/588/2019 составили 1 : 2281 (ДИ: 1 : 1319 – 1 : 3943) для мРНК и 1 : 640 (ДИ: 1 : 404 – 1 : 1014) для саРНК. Против антигенно-дистантного штамма A/Victoria/4897/2022 титры в группах мРНК и саРНК достигли 1 : 1810 (ДИ: 1 : 844 – 1 : 3882) и 1 : 452 (ДИ: 1 : 246 – 1 : 832) соответственно. Эти показатели титров антител были значительно выше, чем в группе инактивированной сплит-вакцины «Ультрикс Квадри», которые не превышали 1 : 56 (ДИ: 1 : 26 – 1 : 121). Несмотря на более высокие титры антител в РТГА после иммунизации вакциной на основе классической мРНК по сравнению с саРНК, различия в титрах антител не достигали статистической значимости. Таким образом, вакцины на основе мРНК и саРНК приводят к формированию выраженного гуморального ответа, что подтверждает их перспективность для создания вакцин нового поколения.

Ключевые слова: мРНК-вакцины, самоамплифицирующаяся РНК, вирус гриппа, иммуногенность, гемагглютинин, липидные наночастицы, перекрестная реактивность, реакция торможения гемагглютинации

Финансирование: исследование выполнено при поддержке гранта государственной программы федерального округа «Сириус»: «Научно-технологическое развитие федерального округа «Сириус» (Соглашение № 3-03 от 18 февраля 2025 г.).

Благодарности: авторы благодарят О. О. Васильеву и И. А. Скворцова из Научно-технологического университета «Сириус» за помощь в формуляции РНК в липидные наночастицы.

Вклад авторов: Д. А. Куньк, О. М. Курченко, В. В. Решетников — дизайн исследования, подготовка мРНК-вакцин, интерпретация данных, написание рукописи; Е. П. Мазунина — планирование и проведение экспериментов на животных; Е. А. Мукашева, А. В. Игнатьева, Е. С. Кириллова — проведение серологических исследований (РТГА); В. В. Решетников, Р. А. Иванов, В. А. Гушчин — редактирование рукописи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» (протокол № 94 от 20 мая 2025 г.). Все процедуры с животными проведены в соответствии с этическими стандартами, утвержденными Приказом Минздрава России, и принципами международного руководства Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Были приняты все меры для минимизации страданий животных и сокращения числа используемых особей.

✉ **Для корреспонденции:** Василий Владимирович Решетников
Олимпийский проспект, д. 1, г. Сочи, 354340; Россия; reshetnikov.vv@talantiuspeh.ru

Статья получена: 10.04.2026 **Статья принята к печати:** 23.05.2026 **Опубликована онлайн:**

DOI: 10.24075/vrgmu.2026.028

Авторские права: © 2026 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/>).

ASSESSMENT OF THE IMMUNOGENICITY OF CLASSIC AND SELF-AMPLIFYING RNA-BASED ANTIVIRAL THERAPEUTICS FOR INFLUENZA

Kunyk DA¹, Mazunina EP², Mukasheva EA², Ignatieva AV², Kirillova ES², Kurchenko OM¹, Ivanov RA¹, Gushchin VA², Reshetnikov VV¹✉

¹ Sirius University of Science and Technology, Sirius, Russia

² Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

The high variability of the influenza virus and the limited flexibility of inactivated vaccines result in a need to develop new, more effective preventive therapeutics. The RNA platform is among the most promising ones for developing new generation vaccines against respiratory infections. The study aimed to compare the immunogenicity of two experimental therapeutics based on classic mRNA and self-amplifying RNA (saRNA) encoding the hemagglutinin (HA) of the A(H1N1)pdm09 influenza virus. BALB/c mice were immunized twice with the RNA-based therapeutics at a dose of 2 µg at a 21-day interval. Humoral immune responses were assessed using the hemagglutination inhibition (HAI) assay. After the second immunization, the geometric mean titers of antibodies against the homologous strain A/Wisconsin/588/2019 were 1 : 2281 (CI: 1 : 1319 – 1 : 3943) for the mRNA vaccine and 1 : 640 (CI: 1 : 404 – 1 : 1014) for the saRNA vaccine. Titers against the antigenically distant strain A/Victoria/4897/2022 in the mRNA group and saRNA group reached 1 : 1810 (CI: 1 : 844 – 1 : 3882) and 1 : 452 (CI: 1 : 246 – 1 : 832), respectively. These antibody titer values were considerably higher than those in the group that received the Ultrix Quadri inactivated split vaccine, which did not exceed 1 : 56 (CI: 1 : 26 – 1 : 121). Despite the higher antibody titers in the HAI assay after immunization with the classic mRNA-based vaccine compared with the saRNA-based vaccine, the differences were not statistically significant. Thus, the mRNA- and saRNA-based vaccines induce a pronounced humoral immune response, confirming that these platforms are promising for the development of new generation vaccines.

Keywords: mRNA vaccines, self-amplifying RNA, influenza virus, immunogenicity, hemagglutinin, lipid nanoparticles, cross-reactivity, hemagglutination inhibition

Funding: the study was supported by grant of the state programme of the Sirius Federal District: Scientific and Technological Development of the Sirius Federal District (Agreement No. 3-03 dated 18 February 2025).

Acknowledgements: the authors express their gratitude to O.O. Vasilieva and I.A. Skvortsov from the Sirius University of Science and Technology for the formulation of RNA into lipid nanoparticles.

Author contribution: Kunyk DA, Kurchenko OM, Reshetnikov VV — study design, preparation of mRNA vaccines, data interpretation, manuscript writing; Mazunina EP — planning and conducting animal experiments; Mukasheva EA, Ignatieva AV, Kirillova ES — serological testing (HAI assay); Reshetnikov VV, Ivanov RA, Gushchin VA — manuscript editing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology (protocol No. 94 dated 20 May 2025). All procedures involving animals were compliant with the ethical standards approved by the Order of the Ministry of Health of Russia and with the principles of the International Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Every effort was made to minimize animal suffering and reduce the number of animals used.

✉ **Correspondence should be addressed:** Vasily V. Reshetnikov
Olimpiyskiy prospekt, 1, Sochi, 354340; Russia; e-mail: reshetnikov.vv@talantiuspeh.ru

Received: 10.04.2026 **Accepted:** 23.05.2026 **Published online:**

DOI: 10.24075/brsmu.2026.028

Copyright: © 2026 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/>).

Вирус гриппа вызывает сезонные заболевания и относится к семейству Orthomyxoviridae, подразделяющемуся на четыре рода (А, В, С и D). Вирус гриппа рода А вызывает наиболее тяжелое течение инфекции и является причиной 290–650 тыс. смертей в год в основном среди детей, беременных женщин и пожилых людей [1]. Высокая изменчивость вируса, обусловленная различными механизмами, включая антигенный дрейф (мутации в генах, кодирующих вирусные белки) и шифт (реассортация сегментов генома), требует ежегодного обновления антигенного состава вакцин [2–4]. Таким образом, эта специфика вируса гриппа обуславливает необходимость обновления состава вакцинных препаратов к постоянно изменяющимся антигенным детерминантам.

Вакцинопрофилактика остается наиболее эффективным инструментом контроля вирусных инфекций, позволяющим снизить заболеваемость и тяжесть клинических проявлений [5]. В настоящее время в России применяют такие вакцины для профилактики гриппа, как «Ультрикс Квадри», «Совигрипл», «Флю-М», «Гриппол плюс», «Гриппол» и «Квадριвалент», которые относятся к инактивированным вакцинам [6]. Инактивированные вакцины, несмотря на высокий профиль безопасности, имеют ряд ограничений. Среди них слабая перекрестная активность индуцируемого иммунного ответа, необходимость ежегодной смены штаммового состава, в том числе из-за снижения иммунного ответа в течение года, сниженная эффективность среди определенных групп риска, а также длительные сроки производства, затрудняющие быструю адаптацию к циркулирующим вариантам вируса [1]. Более того, на этапе получения инактивированных вакцин вирусные антигены могут претерпевать изменения, что может приводить к сниженной эпидемиологической эффективности вакцинальной кампании [7, 8]. Для поддержания долгосрочной защиты обычно необходимы ревакцинации [1]. Показано, что из-за длительного процесса разработки вакцин, а также изменения антигенных детерминант вируса гриппа эффективность инактивированных вакцин варьируется в пределах 10–60% [9].

В отличие от инактивированных препаратов, РНК-вакцины кодируют нативную структуру антигена, обладают собственными адъювантными свойствами и позволяют быстро менять последовательность в ответ на изменчивость вируса [10, 11]. В качестве основы для РНК-вакцины могут быть использованы классические мРНК-молекулы и самоамплифицирующиеся РНК (саРНК), которые, помимо последовательности целевого антигена, содержат также последовательности неструктурных генов альфавирусов, обеспечивающих репликацию РНК в клетке [11, 12]. Препараты на основе саРНК обеспечивают более пролонгированный биосинтез целевого белка, что в контексте вакцинных препаратов может обеспечить более высокую иммуногенность или позволить снизить дозу препарата. Однако использование препаратов на основе саРНК остается ограниченным из-за потенциальных побочных эффектов, связанных с повышенным уровнем реактогенности. Цель данной работы — проведение сравнительного анализа иммуногенности экспериментальных препаратов на основе классической мРНК и самоамплифицирующейся саРНК, кодирующих гемагглютинин вируса гриппа А(H1N1)pdm09 на мышах линии BALB/c. Для валидации экспериментальной системы и корректной интерпретации данных в качестве положительного контроля была использована зарегистрированная инактивированная вакцина «Ультрикс

Квадри». Мы оценили динамику гуморального иммунного ответа (титры антител в РТГА) после двукратной иммунизации с интервалом 21 день. Данное исследование направлено на определение потенциала платформы саРНК в контексте разработки вакцин против гриппа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клонирование и *in vitro* транскрипция

Плазмида, кодирующая самоамплифицирующуюся РНК, содержащую репликационный вирус веносуэльский энцефалит лошадей (VEE) с геном *GFP* (T7-VEE-GFP), была получена из коллекции Addgene (плазмида № 58977). Исходная плазмида, содержащая последовательности EMCV IRES и ген устойчивости к пуromицину, была модифицирована путем удаления этих элементов. Для снижения реактогенности в последовательность неструктурного белка nsP2 была введена мутация S773P. Кроме того, последовательность eGFP под контролем субгеномного промотора заменили на последовательность гемагглютинина вируса гриппа A/Wisconsin/588/2019 (H1N1). Для конструкции классической матричной РНК последовательность H1N1 фланкировали 5'-нетранслируемой областью (5'-UTR) и 3'-нетранслируемой областью (3'-UTR) человеческого альфа-глобина, а также полиА-хвостом длиной 110 н.о.

Транскрипцию саРНК и мРНК *in vitro* проводили в реакционной смеси, содержащей 5 мкг линейаризованной плазмиды, реагенты из набора RNA-20 Kit (Biolabmix, Россия), 2,4 мМ синтетического аналога 3'-O-Me-m⁷G(5')ppp(5')G (кэп-аналог ARCA) (Biolabmix, Россия) для саРНК и 2,4 мМ m²⁷,3'-OGpppAmG (CapAG; Biolabmix) для мРНК, 1 мкг/мл ингибитора рибонуклеаз RiboCare (Evrogen, Россия) и 0,002 е.а./мл неорганической пирофосфатазы (New England Biolabs, США) в соответствии с протоколом производителя. Для транскрипции саРНК *in vitro* использовали стандартный набор нуклеотидов, включающий 3 мМ каждого из АТФ, УТФ, СТФ и 0,6 мМ GTP (Biolabmix, Россия), для синтеза мРНК — 3 мМ АТФ, СТФ, GTP и N1-метилпсевдоуридина (Biolabmix, Россия). Реакцию проводили в течение 1 ч при 37 °С. Для удаления ДНК-матрицы образцы гидролизировали термоллабильной ДНКазой (Thermolabile DNase; Biolabmix, Россия). Затем РНК очищали с использованием магнитных частиц для выделения РНК (RNA beads; Vazyme, Китай). Длину и чистоту синтезированных молекул РНК оценивали с помощью системы микрочипового электрофореза MultiNA (Shimadzu, Япония).

Формуляция РНК в липидные наночастицы

Для инкапсуляции мРНК и саРНК в липидные наночастицы (ЛНЧ) мы использовали автоматизированную систему NP System для генерации липосом (микрочип-миксер, Dolomite Microfluidics, Великобритания). Методика формулирования была аналогична описанной для других мРНК-платформ [13]. Липидный состав включал следующие компоненты: холестерин (Merck, США), ионизируемые катионные липиды (ICL) SM-102 (Sinopeng, Китай), ICL ALC-0315 (Sinopeng, Китай), вспомогательный липид DSPC (Avanti, США), пегилированный липид DMG-PEG2000 (Avanti, США). Оптимальное молярное соотношение компонентов составляло 42,70 : 23,15 : 23,15 : 9,40 : 1,60 (холестерин : SM-102 : ALC-0315 : DSPC : DMG-PEG2000).

После формулирования суспензии частиц очищали методом диализа с использованием мембран Float-A-

Lyzer G2 объемом 1 мл с порогом молекулярной массы отсечения (MWCO) 10 кДа; материал мембраны — сложный эфир целлюлозы (Cellulose Ester; Repligen, США). Мембраны подготавливали в соответствии с протоколом производителя. Диализ проводили в течение ночи (12 ч) в фосфатно-солевом буфере (PBS, pH 7,4) при +4 °C при интенсивном перемешивании. Буфер заменяли один раз. Криопротекцию осуществляли в 20% растворе сахарозы в PBS в течение 2 ч при +4 °C, затем необходимое количество алиquot для анализа и функционального тестирования замораживали при –80 °C.

Аналитическая характеристика мРНК препаратов

Определение размера липидных наночастиц (ЛНЧ) и индекса полидисперсности (PDI) осуществляли на анализаторе Zetasizer Ultra (Malvern Panalytical). Образцы ЛНЧ предварительно разбавляли в 100 раз фосфатно-солевым буфером (PBS) и выдерживали при комнатной температуре для термостабилизации. Измерения проводили в пластиковых кюветах; для каждого образца регистрировали три повторности (каждая — до 100 сканов) до достижения стабильных показаний.

Показатель эффективности инкапсуляции (ЭИ, %) определяли согласно опубликованному протоколу [14]. С целью оценки инкапсуляции ЛНЧ подвергали лизису в ТЕ-буфере (pH 7,5), содержащем 1% Triton X-100. Окрашивание интеркалирующим флуоресцентным красителем SYBR Green (Evrogen, Россия) выполняли как для интактных, так и для лизированных частиц — до и после дестабилизации липидной оболочки. Количественное содержание РНК устанавливали по калибровочной зависимости, построенной с использованием стандарта мРНК в ТЕ-буфере (в присутствии и отсутствии Triton X-100). Итоговую концентрацию инкапсулированной мРНК вычисляли как разность сигналов, полученных для лизированных и нативных образцов.

Подробная характеристика препаратов мРНК-ЛНЧ, используемых в эксперименте, приведена в результатах исследования.

Иммунизация

Для оценки иммуногенности были сформированы четыре группы мышей линии BALB/c (самки возрастом 7–8 недель, по шесть мышей в группе; рис. 1А). При формировании групп мышей распределяли в случайном порядке. Иммунизировали мышей в мышцу бедра на нулевой день и 21-й день в дозах 2 мкг саРНК или мРНК в объеме 0,2 человеческой дозы (3 мкг) вакцины «Ультрикс Квадри» (штаммовый состав 2025–2026 гг. для Северного полушария: A/Victoria/4897/2022 (H1N1)pdm09; A/Croatia/10136RV/2023 (H3N2); B/Austria/1359417/2021; B/Phuket/3073/2013) и 100 мкл плацебо (PBS с 20% сахарозы). Оценку титра антител проводили в сыворотках крови мышей на 20-й день после первой иммунизации и на 21-й день после второй иммунизации (42-й день после первой иммунизации) в реакции торможения гемагглютинации (титр РТГА) по отношению к гемагглютину антигенных вариантов вируса гриппа A(H1N1)pdm09.

Доза инактивированной вакцины «Ультрикс Квадри» для мышей (3 мкг гемагглютинаина на штамм, что соответствует ~0,2 человеческой дозы) была выбрана на основе аллометрического масштабирования по площади поверхности тела с использованием *Km*-факторов [15]:

Km (человек) = 37, Km (мышь) = 3. Расчетная эквивалентная доза составила ~1,2 мкг, однако для обеспечения надежной детекции иммунного ответа и сопоставимости с дозой экспериментальных РНК-препаратов (2 мкг) использовали консервативную дозу 3 мкг. Поскольку экспериментальные РНК-препараты кодируют единственный антиген (ГА A/Wisconsin/588/2019), сравнение иммуногенности с «Ультрикс Квадри» проводили по эквивалентной дозе гемагглютинаина конкретного штамма H1N1, что обеспечивает корректность интерпретации данных.

Реакция торможения гемагглютинации

Иммуногенность в экспериментах на животных оценивали с помощью реакции торможения гемагглютинации (РТГА) в соответствии с протоколом РТГА, разработанным на основе рекомендаций Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) [16]. Для этого сыворотки крови мышей обрабатывали рецептор-разрушающим ферментом (RDE, полученный из *Vibrio cholerae*, приобретен в Denka Seiken Co., Ltd., Токио, Япония), после чего в 96-луночных планшетах с V-образным дном готовили двукратные разведения обработанных сывороток. Затем добавляли вирусный антиген в рабочей дозе 8 агглютинирующих единиц (АЕ) и инкубировали планшет в течение 30 мин при комнатной температуре. После этого добавляли 0,5–1% суспензии человеческих эритроцитов первой группы крови системы АВ0 и инкубировали планшет еще 60 мин при комнатной температуре. Если в образце сыворотки присутствовали антитела, способные перекрестно реагировать с вирусом, они связывались с вирусом и препятствовали его способности агглютинировать эритроциты. После инкубации титр антител определяли как наибольшее разведение сыворотки, при котором еще наблюдали торможение гемагглютинации.

Антиген вируса гриппа A/Victoria/4897/2022 для проведения РТГА был приобретен в ООО «Компания по производству диагностических препаратов» (Санкт-Петербург, Россия). Культивирование вирусного штамма A/Wisconsin/588/2019 с целью накопления антигенного материала проводили на культуре клеток MDCK согласно общепринятой методике [16].

Статистический анализ

Статистическую обработку данных проводили, используя однофакторный дисперсионный анализ Краскела–Уоллиса с помощью теста Данна для попарного сравнения (post-hoc). 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

На первом этапе проводили оценку качества полученных вакцинных препаратов на основе мРНК и саРНК, инкапсулированных в липидные наночастицы (рис. 1). Оба препарата были приготовлены в концентрации 20 нг/мкл (в пересчете на РНК). Препараты имели высокий уровень инкапсуляции: для классической мРНК этот показатель составил 99,9%, для самоамплифицирующейся саРНК — 94,0% (рис. 1А). Средний гидродинамический диаметр частиц находился в сопоставимом диапазоне: ~99,2 нм для мРНК-препарата и ~88,2 нм для саРНК-препарата,

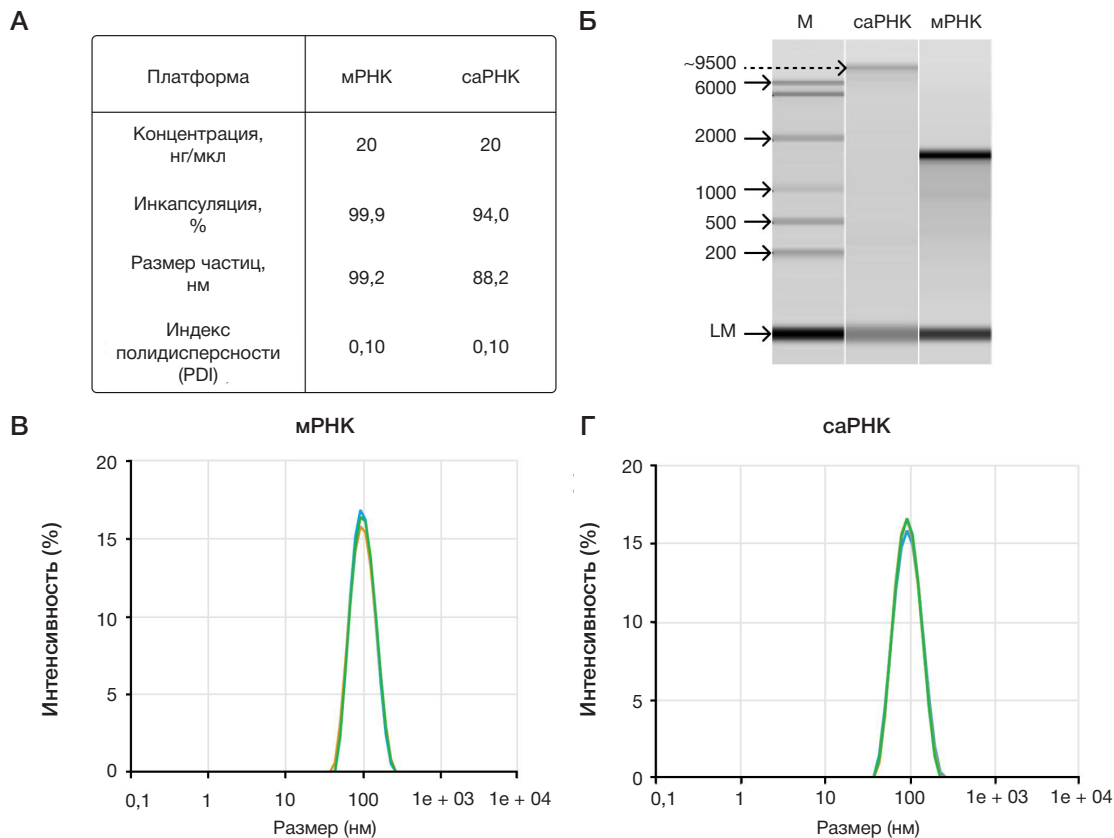


Рис. 1. Физико-химические параметры РНК-ЛНЧ. **А.** Аналитические характеристики липидных наночастиц. **Б.** Капиллярный электрофорез саРНК и мРНК после разрушения частиц. Пунктирной стрелкой указана предполагаемая длина саРНК. **В, Г.** Анализ распределения частиц по размерам методом динамического светорассеяния мРНК и саРНК соответственно

что соответствует оптимальному размеру для клеточного захвата путем эндоцитоза. Целостность и размер нуклеиновых кислот были верифицированы методом капиллярного гель-электрофореза после разрушения липидных наночастиц. Четкие дискретные полосы без признаков деградации свидетельствовали о высоком качестве полученных препаратов. Длина классической мРНК ~2000 н.о., а саРНК ~9500 н.о., что обусловлено наличием в ее составе последовательности неструктурных генов альфавируса (рис. 1Б). Анализ распределения частиц по размерам методом динамического светорассеяния подтвердил однородность обоих препаратов. Размер частиц был в диапазоне от 88 нм до 100 нм при индексе полидисперсности PDI < 0,11 (рис. 1В, Г). Таким образом, препараты на основе мРНК и саРНК имели высокие показатели качества и сопоставимые физико-химические параметры, что позволило использовать их для дальнейшей оценки иммуногенности.

Через 20 дней после первой иммунизации в группах мышей, получивших экспериментальные РНК-препараты (саРНК и мРНК), наблюдали детектируемые титры антител, ингибирующих гемагглютинацию ($p < 0,01$), против антигенов вирусов гриппа A/Wisconsin/588/2019 и A/Victoria/4897/2022 по сравнению с группой отрицательного контроля (PBS) (рис. 2Б). В группе саРНК среднее геометрических титров антител составило 1 : 180 (ДИ (95% доверительный интервал): 1 : 133 – 1 : 242) против штамма A/Wisconsin/588/2019 и 1 : 67 (ДИ: 1 : 44 – 1 : 92) против A/Victoria/4897/2022. В группе классической мРНК были получены более высокие показатели: 1 : 285 (ДИ: 1 : 165 – 1 : 493) и 1 : 101 (ДИ: 1 : 48 – 1 : 214) против тех же штаммов соответственно, однако межгрупповые различия не достигали статистической значимости. В

группе животных, вакцинированных коммерческой инактивированной сплит-вакциной «Ультрикс Квадри» (0,2 человеческой дозы), титр антител в РТГА против штамма A/Wisconsin/588/2019 составил 1 : 71 (ДИ: 1 : 53 – 1 : 96), а против штамма A/Victoria/4897/2022 наблюдали минимальные титры антител (менее 1 : 37 (ДИ: 1 : 17 – 1 : 73)). Таким образом, вакцина «Ультрикс Квадри» хоть и имела в своем составе антигены вирусного штамма A/Victoria/4897/2022, однако стимулировала выработку более низкого уровня иммунного ответа в выбранной дозе.

Через 20 дней после второй иммунизации (41-й день эксперимента; рис. 2В) наблюдалось существенное повышение титров антител, ингибирующих гемагглютинацию как против штамма A/Wisconsin/588/2019, так и против штамма A/Victoria/4897/2022 в группах экспериментальных РНК-препаратов по сравнению с первой иммунизацией (рис. 2Б). Наиболее выраженное повышение титра антител отмечено в группе мышей, иммунизированных классической мРНК. Титр антител в группе мРНК против штамма A/Wisconsin/588/2019 был 1 : 2281 (ДИ: 1 : 1319 – 1 : 3943), что выше ($p < 0,0001$) по сравнению с группой отрицательного контроля (PBS) и группой мышей, получивших контрольную вакцину (1 : 17 (ДИ: 1 : 8 – 1 : 42)). Против штамма A/Victoria/4897/2022 в группе мРНК также наблюдались высокие титры (1 : 1810 (ДИ: 1 : 844 – 1 : 3882)), отличающиеся от контроля и группы «Ультрикс Квадри» (1 : 56 (ДИ: 1 : 26 – 1 : 121); $p < 0,05$). В группе мышей, иммунизированных саРНК, титры антител также повышались после второй иммунизации, но менее выражено, чем в группе мРНК. В группе саРНК титры составили 1 : 640 (ДИ: 1 : 404 – 1 : 1014) против штамма A/Wisconsin/588/2019 и 1 : 452 (ДИ: 1 : 246 – 1 : 832) против штамма A/Victoria/4897/2022, что было также

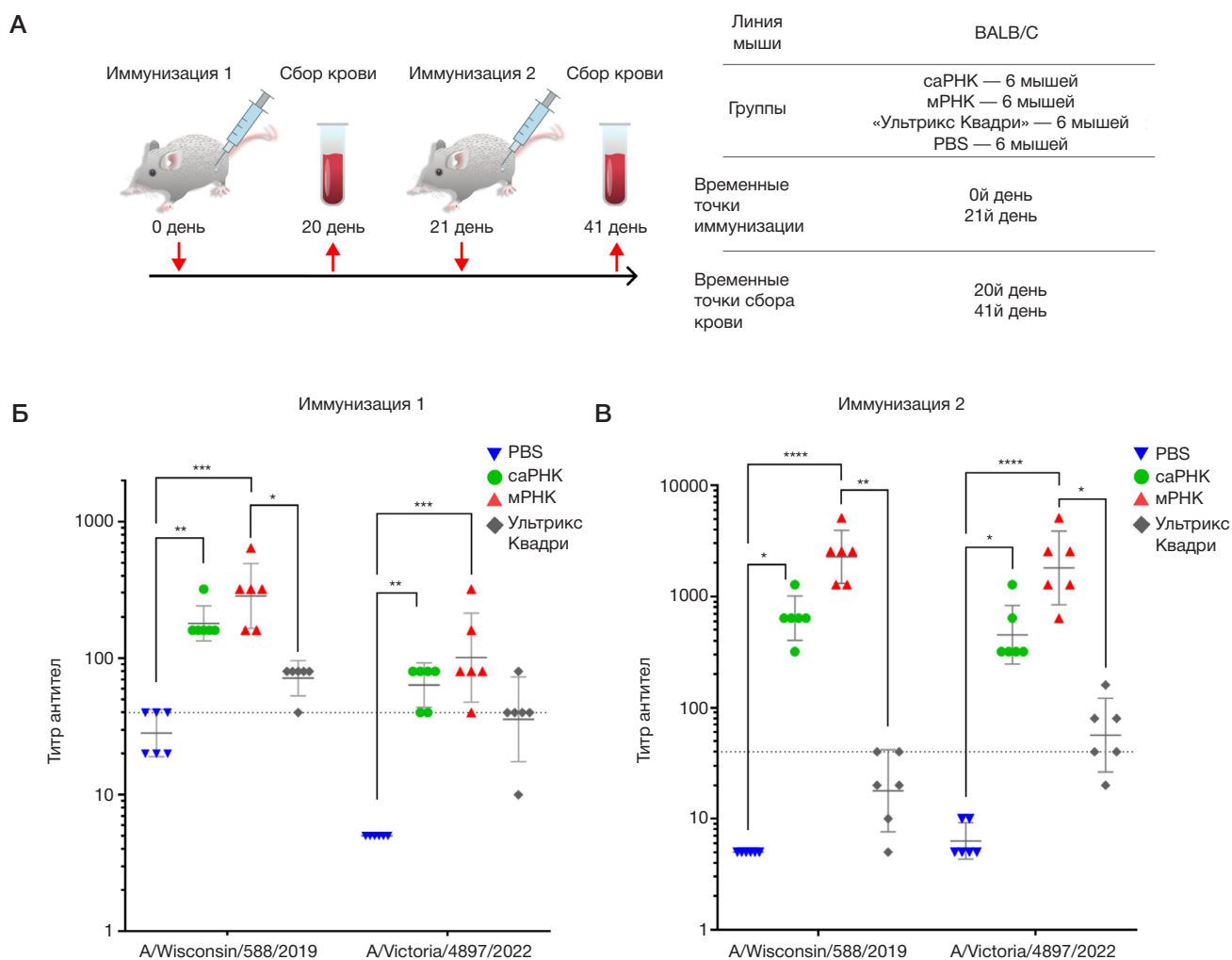


Рис. 2. Схема иммунизации и результаты РТГА. **А.** Схема эксперимента. **Б.** График среднегеометрического титра антител групп мышей, иммунизированных PBS, мРНК, саРНК и «Ультрикс Квадри» через 20 дней после первой иммунизации. **В.** График среднегеометрического титра антител групп мышей, иммунизированных PBS, мРНК, саРНК и «Ультрикс Квадри» через 21 день после второй иммунизации (* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$; **** — $p < 0,0001$; тест Данна)

выше, чем у контрольной группы ($p < 0,05$). Межгрупповые различия групп саРНК и мРНК не достигли статистической значимости. Вакцина «Ультрикс Квадри» после второй иммунизации показала низкие титры антител в тесте РТГА, которые были значительно ниже показателей обеих групп РНК-вакцин. В целом, эти данные свидетельствуют о высоком гуморальном иммунном ответе, наблюдаемом при использовании мРНК- и саРНК-вакцин.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящем исследовании проведено сравнение иммуногенности экспериментальных вакцин на основе классической мРНК и самоамплифицирующейся саРНК, кодирующих гемагглютинин вируса гриппа A/Wisconsin/588/2019 (H1N1)pdm09, в доклинической модели на мышах линии BALB/c. После второй иммунизации наблюдалось значительное увеличение титров антител в обеих группах РНК-вакцин, которые значительно превосходили показатели, наблюдаемые при использовании вакцины «Ультрикс Квадри». Последняя показала лишь умеренный рост или отсутствие значимого ответа против штаммов A/Wisconsin/588/2019 и A/Victoria/4897/2022. Низкая иммуногенность инактивированной вакцины, наблюдаемая нами в ходе описанных экспериментов, может быть обусловлена как низкой выбранной дозой

вакцины (по 3 мкг каждого из четырех антигенов), так и свойствами платформы (фиксированной дозой антигена, отсутствием эндогенной экспрессии и адъювантов). Что же касается РНК-препаратов, то они, согласно литературным источникам, обеспечивают длительный биосинтез вирусных антигенов и могут оказывать дополнительный адъювантный эффект за счет активации рецепторов врожденного иммунитета (TLR3, TLR7/8, RIG-I) [11].

Анализ перекрестной реактивности выявил, что использование РНК-препаратов обеспечивает формирование высокого титра антител как против гомологичного штамма A/Wisconsin/588/2019, так и против антигенно-дистантного варианта A/Victoria/4897/2022. Способность обеих РНК-препаратов индуцировать выраженную иммуногенность против антигенно-дистантного штамма A/Victoria/4897/2022 подтверждает потенциал платформы РНК для индукции кросс-реактивного иммунного ответа [17]. Эти результаты подтверждают литературные сведения о способности РНК-вакцин индуцировать антитела, распознающие антигенно-дрейфующие штаммы [18–20]. Таким образом, создание мультивалентных конструкций, кодирующих гемагглютинины нескольких подтипов гриппа, может способствовать разработке универсальной вакцины с широкой перекрестной защитой [21]. Эти обстоятельства подтверждают перспективность обеих РНК-технологий для профилактики гриппа.

Полученные в нашем исследовании титры РТГА для классической мРНК (1 : 2281 (ДИ: 1 : 1319 – 1 : 3943) против гомологичного штамма после второй иммунизации) находятся в диапазоне значений, наблюдаемых в других исследованиях [19–20]. Показано, что однократная иммунизация мРНК-препаратом против гриппа индуцировала титры >1 : 40, а после второй иммунизации значения находились в диапазоне 1 : 1000–1 : 5000 в зависимости от штамма и дозы [22]. В нашем предыдущем исследовании [23] средние геометрические титры антител в РТГА после двукратной иммунизации трехвалентным мРНК-препаратом также превышали 1 : 1000 и были в ~86 раз выше по сравнению с инактивированной вакциной. Для саРНК-платформы наши данные (1 : 640 (ДИ: 1 : 404 – 1 : 1014) при дозе 2 мкг) согласуются с другим исследованием, показывающим, что вакцины на основе самоамплифицирующейся РНК обеспечивают высокие титры РТГА после первой иммунизации на уровне 1 : 104 ± 53,67 при дозе 1,25 мкг [24]. Несмотря на отсутствие статистической значимости в РТГА-титрах в группах мРНК и саРНК, абсолютные значения и размах в группе мРНК были выше. Эти эффекты могут быть связаны со специфическим паттерном трансляции саРНК. Так, в экспериментах по прижизненной биолюминесценции на репортерных белках было показано, что в первые дни после введения саРНК наблюдается более низкий уровень биосинтеза целевого белка, который достигает максимума на 5–7 день после введения и затем постепенно снижается [25–27]. В случае препаратов мРНК максимальный уровень репортерного белка достигается через сутки после введения и затем значительно снижается, что обусловлено коротким периодом полудеградации РНК [25–27].

Важным ограничением текущего исследования является отсутствие оценки клеточного иммунного ответа. В данной работе мы сосредоточились на оценке гуморального иммунитета, в частности на оценке уровня гемагглютинирующих антител. Титры в РТГА являются коррелятом защиты против гриппа и используются регуляторными органами для оценки эффективности вакцин [28]. Следует также отметить, что при одинаковой массовой

дозе (2 мкг) молярное количество саРНК (~9,5 т.п.н.) примерно в 5 раз ниже, чем у мРНК (~2 т.п.н.). Сравнение препаратов в равной дозе необходимо для детекции возможных дозозависимых побочных эффектов. Выбор дозы был обусловлен ограничениями по реактогенности саРНК-платформы (активация врожденного иммунитета репликационными интермедиатами) и компенсирующим эффектом самоамплификации, обеспечивающим высокий уровень экспрессии антигена даже при меньшем стартовом количестве молекул.

Несмотря на более скромные результаты по иммуногенности кандидатной вакцины на основе саРНК, ее использование обладает большим потенциалом снижения дозы и потенциально может способствовать более длительному сохранению титров антител по сравнению с мРНК благодаря внутриклеточной репликации, что может снизить стоимость препарата и нежелательные эффекты, связанные с более высокой дозой липидных наночастиц. Перспективы дальнейшей разработки связаны с оптимизацией последовательности самоамплифицирующейся РНК. В частности, внесение мутаций в последовательности неструктурных белков репликаона и оптимизация регуляторных элементов могут значительно улучшить иммуногенность саРНК-вакцин [11].

ВЫВОДЫ

Полученные данные демонстрируют, что кандидатные РНК-препараты на основе классической мРНК и саРНК, инкапсулированные в липидные наночастицы, приводят к формированию выраженного гуморального иммунного ответа против гомологичного A/Wisconsin/588/2019 и дистантного штамма A/Victoria/4897/2022, что подчеркивает их перспективность для создания вакцин нового поколения против сезонного и пандемического гриппа. Результаты нашего исследования показали, что кандидатный вакцинный препарат против гриппа на основе саРНК не показал преимуществ по сравнению с мРНК-препаратом. Таким образом, требуется дальнейшая оптимизация ее последовательности, дозы и режима введения.

Литература

- Nuwarda RF, Alharbi AA, Kayser V. An Overview of Influenza Viruses and Vaccines. *Vaccines*. 2021; 9 (9): 1032. DOI: 10.3390/vaccines9091032.
- Taubenberger JK, Kash JC, Morens DM. The 1918 influenza pandemic: 100 years of questions answered and unanswered. *Sci Transl Med*. 2019; 11 (502): eaau5485. DOI: 10.1126/scitranslmed.aau5485.
- Taubenberger JK, Morens DM. Influenza: The Once and Future Pandemic. *Public Health Rep*. 2010; 125 (3_suppl): 15–26. DOI: 10.1177/00333549101250S305.
- Stubbs TM, Te Velthuis AJ. The Rna-Dependent RNA Polymerase of the Influenza A Virus. *Future Virol*. 2014; 9 (9): 863–76. DOI: 10.2217/fvl.14.66.
- Taylor MW. *Vaccines Against Viral Infections. B: Viruses and Man: A History of Interactions*. Cham: Springer International Publishing, 2014; p. 355–77 [цитируется по 30 март 2026 г.]. Available from: https://link.springer.com/10.1007/978-3-319-07758-1_19 DOI:10.1007/978-3-319-07758-1_19.
- Bulgakova VA, Selimzyanova LR, Privalova TE, Yusupova DA. Immunisation of young children against influenza — evidence review. *Lechaschi Vrach*. 2022; 10 (25). DOI: 10.51793/OS.2022.25.10.009.
- Zost SJ, Parkhouse K, Gumina ME, Kim K, Diaz Perez S, Wilson PC, et al. Contemporary H3N2 influenza viruses have a glycosylation site that alters binding of antibodies elicited by egg-adapted vaccine strains. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2017; 114 (47): 12578–83. DOI: 10.1073/pnas.1712377114.
- Xie H, Wan XF, Ye Z, Plant EP, Zhao Y, Xu Y, et al. H3N2 Mismatch of 2014–15 Northern Hemisphere Influenza Vaccines and Head-to-head Comparison between Human and Ferret Antisera derived Antigenic Maps. *Sci Rep*. 2015; 5 (1): 15279. DOI: 10.1038/srep15279.
- Paules CI, Fauci AS. Influenza Vaccines: Good, but We Can Do Better. *The Journal of Infectious Diseases*. 2019; 219 (Supplement_1): S1–4. DOI: 10.1093/infdis/jiy633.
- Jin L, Zhou Y, Zhang S, Chen SJ. mRNA vaccine sequence and structure design and optimization: Advances and challenges. *Journal of Biological Chemistry*. 2025; 301 (1): 108015. DOI: 10.1016/j.jbc.2024.108015.
- Kunykh D, Plotnikova M, Bepalov M, Shevyrev D, Klotchenko S, Ivanov R, et al. The Interplay Between Therapeutic Self-Amplifying RNA and the Innate Immune System: Balancing Efficiency and Reactogenicity. *IJMS*. 2025; 26 (18): 8986. DOI: 10.3390/ijms26188986.
- Li J, Liu Y, Dai J, Yang L, Xiong F, Xia J, et al. mRNA Vaccines: Current Applications and Future Directions. *MedComm*. 2025; 6 (11): e70434. DOI: 10.1002/mco2.70434.
- Kozlova A, Pateev I, Shepelkova G, Vasileva O, Zakharova N, Yeremeev V, et al. A Cap-Optimized mRNA Encoding Multipeptide

- Antigen ESAT6 Induces Robust Cellular and Humoral Immune Responses Against *Mycobacterium tuberculosis*. *Vaccines*. 2024; 12 (11): 1267. DOI: 10.3390/vaccines12111267.
14. Ryapolova A, Shevryev D, Tsvetkova A, Sokolova O, Vasileva O, Andriianov V, et al. Enhanced Antitumor Effect of Oncolytic Virotherapy Combined with mRNA-Encoded Immunoadjuvants in Colorectal Carcinoma (CT26) Tumor Model. *Applied Biosciences*. 2025; 5 (1): 1. DOI: 10.3390/applbiosci5010001.
 15. FDA. Guidance for Industry: Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers. 2005.
 16. World Health Organization, редактор. Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza. Geneva: World Health Organization, 2011; 139 p.
 17. Allen JD, Ross TM. mRNA vaccines encoding computationally optimized hemagglutinin elicit protective antibodies against future antigenically drifted H1N1 and H3N2 influenza viruses isolated between 2018-2020. *Front Immunol*. 2024; 15: 1334670. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1334670.
 18. Cheung M, Chang C, Rathnasinghe R, Rossignol E, Zhang Y, Ferrari A, et al. Self-amplifying mRNA seasonal influenza vaccines elicit mouse neutralizing antibody and cell-mediated immunity and protect ferrets. *npj Vaccines*. 2023; 8 (1): 150. DOI: 10.1038/s41541-023-00747-2.
 19. Chang C, Music N, Cheung M, Rossignol E, Bedi S, Patel H, et al. Self-amplifying mRNA bicistronic influenza vaccines raise cross-reactive immune responses in mice and prevent infection in ferrets. *Molecular Therapy — Methods & Clinical Development*. 2022; 27: 195–205. DOI: 10.1016/j.omtm.2022.09.013.
 20. Cao RG, Suarez NM, Obermoser G, Lopez SMC, Flano E, Mertz SE, et al. Differences in Antibody Responses Between Trivalent Inactivated Influenza Vaccine and Live Attenuated Influenza Vaccine Correlate With the Kinetics and Magnitude of Interferon Signaling in Children. *The Journal of Infectious Diseases*. 2014; 210 (2): 224–33. DOI: 10.1093/infdis/jiu079.
 21. Uno N, Ross TM. Multivalent next generation influenza virus vaccines protect against seasonal and pre-pandemic viruses. *Sci Rep*. 2024; 14 (1): 1440. DOI: 10.1038/s41598-023-51024-0.
 22. Reneer ZB, Bergeron HC, Reynolds S, Thornhill-Wadolowski E, Feng L, Bugno M, et al. mRNA vaccines encoding influenza virus hemagglutinin (HA) elicits immunity in mice from influenza A virus challenge. Huber VC, редактор. *PLoS ONE*. 2024; 19 (4): e0297833. DOI: 10.1371/journal.pone.0297833.
 23. Mazunina EP, Gushchin VA, Klymenov DA, Siniavin AE, Burtseva EI, Shmarov MM, et al. Trivalent mRNA vaccine-candidate against seasonal flu with cross-specific humoral immune response. *Front Immunol*. 2024; 15: 1381508. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1381508.
 24. Vogel AB, Lambert L, Kinneer E, Busse D, Erbar S, Reuter KC, et al. Self-Amplifying RNA Vaccines Give Equivalent Protection against Influenza to mRNA Vaccines but at Much Lower Doses. *Molecular Therapy*. 2018; 26 (2): 446–55. DOI: 10.1016/j.ymthe.2017.11.017.
 25. Gong Y, Yong D, Liu G, Xu J, Ding J, Jia W. A Novel Self-Amplifying mRNA with Decreased Cytotoxicity and Enhanced Protein Expression by Macrodomain Mutations. *Advanced Science*. 2024; 11 (43): 2402936. DOI: 10.1002/advs.202402936.
 26. Casmil IC, Friesen JJ, Bathula NV, Strumpel A, Ho CH, Guez I, et al. Divergent Delivery and Expression Kinetics of Lipid and Polymeric Nanoparticles across mRNA Modalities. *Advanced Science*. 2025; 12 (38): e08907. DOI: 10.1002/advs.202508907.
 27. McGee JE, Kirsch JR, Kenney D, Cerbo F, Chavez EC, Shih TY, et al. Complete substitution with modified nucleotides in self-amplifying RNA suppresses the interferon response and increases potency. *Nat Biotechnol*. 2025; 43 (5): 720–6. DOI: 10.1038/s41587-024-02306-z.
 28. World Health Organization. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2023–2024 northern hemisphere influenza season.

References

1. Nuwarda RF, Alharbi AA, Kayser V. An Overview of Influenza Viruses and Vaccines. *Vaccines*. 2021; 9 (9): 1032. DOI: 10.3390/vaccines9091032.
2. Taubenberger JK, Kash JC, Morens DM. The 1918 influenza pandemic: 100 years of questions answered and unanswered. *Sci Transl Med*. 2019; 11 (502): eaau5485. DOI: 10.1126/scitranslmed.aau5485.
3. Taubenberger JK, Morens DM. Influenza: The Once and Future Pandemic. *Public Health Rep*. 2010; 125 (3_suppl): 15–26. DOI: 10.1177/00333549101250S305.
4. Stubbs TM, Te Velthuis AJ. The Rna-Dependent RNA Polymerase of the Influenza A Virus. *Future Virol*. 2014; 9 (9): 863–76. DOI: 10.2217/fvl.14.66.
5. Taylor MW. Vaccines Against Viral Infections. B: *Viruses and Man: A History of Interactions*. Cham: Springer International Publishing, 2014; p. 355–77 [цитируется по 30 март 2026 г.]. Available from: https://link.springer.com/10.1007/978-3-319-07758-1_19 DOI:10.1007/978-3-319-07758-1_19.
6. Bulgakova VA, Selimzyanova LR, Privalova TE, Yusupova DA. Immunisation of young children against influenza — evidence review. *Lechaschi Vrach*. 2022; 10 (25). DOI: 10.51793/OS.2022.25.10.009.
7. Zost SJ, Parkhouse K, Gumina ME, Kim K, Diaz Perez S, Wilson PC, et al. Contemporary H3N2 influenza viruses have a glycosylation site that alters binding of antibodies elicited by egg-adapted vaccine strains. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2017; 114 (47): 12578–83. DOI: 10.1073/pnas.1712377114.
8. Xie H, Wan XF, Ye Z, Plant EP, Zhao Y, Xu Y, et al. H3N2 Mismatch of 2014–15 Northern Hemisphere Influenza Vaccines and Head-to-head Comparison between Human and Ferret Antisera derived Antigenic Maps. *Sci Rep*. 2015; 5 (1): 15279. DOI: 10.1038/srep15279.
9. Paules CI, Fauci AS. Influenza Vaccines: Good, but We Can Do Better. *The Journal of Infectious Diseases*. 2019; 219 (Supplement_1): S1–4. DOI: 10.1093/infdis/jiy633.
10. Jin L, Zhou Y, Zhang S, Chen SJ. mRNA vaccine sequence and structure design and optimization: Advances and challenges. *Journal of Biological Chemistry*. 2025; 301 (1): 108015. DOI: 10.1016/j.jbc.2024.108015.
11. Kunyk D, Plotnikova M, Bespalov M, Shevryev D, Klotchenko S, Ivanov R, et al. The Interplay Between Therapeutic Self-Amplifying RNA and the Innate Immune System: Balancing Efficiency and Reactogenicity. *IJMS*. 2025; 26 (18): 8986. DOI: 10.3390/ijms26188986.
12. Li J, Liu Y, Dai J, Yang L, Xiong F, Xia J, et al. mRNA Vaccines: Current Applications and Future Directions. *MedComm*. 2025; 6 (11): e70434. DOI: 10.1002/mco2.70434.
13. 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. DOI: 10.3390/vaccines12111267.
14. Ryapolova A, Shevryev D, Tsvetkova A, Sokolova O, Vasileva O, Andriianov V, et al. Enhanced Antitumor Effect of Oncolytic Virotherapy Combined with mRNA-Encoded Immunoadjuvants in Colorectal Carcinoma (CT26) Tumor Model. *Applied Biosciences*. 2025; 5 (1): 1. DOI: 10.3390/applbiosci5010001.
15. FDA. Guidance for Industry: Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers. 2005.
16. World Health Organization, редактор. Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza. Geneva: World Health Organization, 2011; 139 p.
17. Allen JD, Ross TM. mRNA vaccines encoding computationally optimized hemagglutinin elicit protective antibodies against future antigenically drifted H1N1 and H3N2 influenza viruses isolated between 2018-2020. *Front Immunol*. 2024; 15: 1334670. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1334670.
18. Cheung M, Chang C, Rathnasinghe R, Rossignol E, Zhang Y, Ferrari A, et al. Self-amplifying mRNA seasonal influenza vaccines elicit mouse neutralizing antibody and cell-mediated immunity and protect ferrets. *npj Vaccines*. 2023; 8 (1): 150. DOI: 10.1038/s41541-023-00747-2.
19. Chang C, Music N, Cheung M, Rossignol E, Bedi S, Patel H, et al. Self-amplifying mRNA bicistronic influenza vaccines raise

- cross-reactive immune responses in mice and prevent infection in ferrets. *Molecular Therapy — Methods & Clinical Development*. 2022; 27: 195–205. DOI: 10.1016/j.omtm.2022.09.013.
20. Cao RG, Suarez NM, Obermoser G, Lopez SMC, Flano E, Mertz SE, et al. Differences in Antibody Responses Between Trivalent Inactivated Influenza Vaccine and Live Attenuated Influenza Vaccine Correlate With the Kinetics and Magnitude of Interferon Signaling in Children. *The Journal of Infectious Diseases*. 2014; 210 (2): 224–33. DOI: 10.1093/infdis/jiu079.
 21. Uno N, Ross TM. Multivalent next generation influenza virus vaccines protect against seasonal and pre-pandemic viruses. *Sci Rep*. 2024; 14 (1): 1440. DOI: 10.1038/s41598-023-51024-0.
 22. Reneer ZB, Bergeron HC, Reynolds S, Thornhill-Wadolowski E, Feng L, Bugno M, et al. mRNA vaccines encoding influenza virus hemagglutinin (HA) elicits immunity in mice from influenza A virus challenge. Huber VC, редактор. *PLoS ONE*. 2024; 19 (4): e0297833. DOI: 10.1371/journal.pone.0297833.
 23. Mazunina EP, Gushchin VA, Kleymenov DA, Siniavin AE, Burtseva EI, Shmarov MM, et al. Trivalent mRNA vaccine-candidate against seasonal flu with cross-specific humoral immune response. *Front Immunol*. 2024; 15: 1381508. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1381508.
 24. Vogel AB, Lambert L, Kinnear E, Busse D, Erbar S, Reuter KC, et al. Self-Amplifying RNA Vaccines Give Equivalent Protection against Influenza to mRNA Vaccines but at Much Lower Doses. *Molecular Therapy*. 2018; 26 (2): 446–55. DOI: 10.1016/j.ymthe.2017.11.017.
 25. Gong Y, Yong D, Liu G, Xu J, Ding J, Jia W. A Novel Self-Amplifying mRNA with Decreased Cytotoxicity and Enhanced Protein Expression by Macrodomein Mutations. *Advanced Science*. 2024; 11 (43): 2402936. DOI: 10.1002/advs.202402936.
 26. Casmil IC, Friesen JJ, Bathula NV, Strumpel A, Ho CH, Guez I, et al. Divergent Delivery and Expression Kinetics of Lipid and Polymeric Nanoparticles across mRNA Modalities. *Advanced Science*. 2025; 12 (38): e08907. DOI: 10.1002/advs.202508907.
 27. McGee JE, Kirsch JR, Kenney D, Cerbo F, Chavez EC, Shih TY, et al. Complete substitution with modified nucleotides in self-amplifying RNA suppresses the interferon response and increases potency. *Nat Biotechnol*. 2025; 43 (5): 720–6. DOI: 10.1038/s41587-024-02306-z.
 28. World Health Organization. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2023–2024 northern hemisphere influenza season.

ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ ЛИПИДНОГО ПРОФИЛЯ ПОСМЕРТНОГО БИОМАТЕРИАЛА ДЛЯ РАЗВИТИЯ МЕТОДОВ ИНТРАОПЕРАЦИОННОЙ ДИАГНОСТИКИ

Е. В. Парочкина¹✉, А. А. Румянцева¹, Д. К. Семёнова¹, Д. С. Бормотов¹, А. А. Темнов^{1,2}, Г. С. Ступникова¹, Д. С. Заворотнюк¹, К. В. Бочаров^{1,3}¹ Московский физико-технический институт (Национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Россия² Федеральный медицинский биофизический центр имени А. И. Бурназяна, Москва, Россия³ Институт энергетических проблем химической физики имени В. Л. Тальрозе, Москва, Россия

Интраоперационное определение границ опухоли позволяет снизить объем резекции, обеспечивая полноту удаления злокачественной ткани без повышения риска рецидива. Существующие подходы, такие как интраоперационная гистология или томография, отличаются высокой эффективностью, но увеличивают продолжительность хирургического вмешательства. Поэтому особый интерес представляет развитие методов анализа в реальном времени. Одним из таких решений является масс-спектрометрическое профилирование, основанное на методах прямой ионизации. Молекулярный профиль исследуемой ткани сопоставляется с референсной базой данных, содержащей профили патологически измененной и здоровой контрольной ткани, получение которой для многих органов человека возможно только с использованием аутопсийного материала. Однако из-за неизбежной задержки между наступлением смерти и отбором образцов, процессы деградациии тканей могут вносить вклад в картину изменений, связанных с развитием патологического процесса. Цель проведенного экспериментального количественного исследования — изучить стабильность профилей полярных липидов в тканях печени и головного мозга здоровых мышей линии Balb/c ($n = 23$) в раннем посмертном периоде (0–72 ч). Показано, что лизолипиды и свободные жирные кислоты коррелируют ($r > 0,6$ для всех; $r = 0,75$ для FA 20:4 и FA 22:6) с посмертным интервалом, поэтому не могут быть использованы как молекулярные маркеры для построения диагностических моделей на базе коллекций аутопсийного материала. В то же время фосфолипиды клеточных мембран не претерпевают существенных изменений предсмертности в тканях в раннем посмертном периоде, поэтому сохраняют потенциал как биомаркеры, подходящие для выявления с использованием не только биопсийного, но и аутопсийного материала.

Ключевые слова: масс-спектрометрия, молекулярная диагностика, метаболическое профилирование, липиды, посмертная стабильность, онкометаболиты, интраоперационная диагностика

Финансирование: исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда в рамках научного проекта № 23-69-10035.

Вклад авторов: Е. В. Парочкина — концепция, проведение эксперимента, анализ данных, написание статьи; А. А. Румянцева, Д. К. Семёнова, Г. С. Ступникова — проведение эксперимента; Д. С. Бормотов — проведение эксперимента, анализ данных; А. А. Темнов — концепция, проведение эксперимента; Д. С. Заворотнюк — анализ данных; К. В. Бочаров — поиск источников финансирования, руководство исследованием.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено комиссией по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных центра доклинических исследований центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦДИ ЦНИЛ) ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (протокол № 1 от 13 октября 2023 г.). Работа выполнена в соответствии с Федеральным законом № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств», рекомендациями Коллегии Евразийской экономической комиссии 2023 г. «Руководство по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований». Соблюдены санитарно-эпидемиологические нормы, закрепленные в СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

✉ **Для корреспонденции:** Екатерина Владимировна Парочкина
ул. Первомайская, д. 5, г. Долгопрудный, 141701, Россия; shamarina.ev@phystech.edu

Статья получена: 12.05.2026 **Статья принята к печати:** 17.06.2026 **Опубликована онлайн:** 29.06.2026

DOI: 10.24075/vrgmu.2026.037

Авторские права: © 2026 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/>).

ASSESSMENT OF LIPID PROFILE STABILITY IN POSTMORTEM SAMPLES FOR THE DEVELOPMENT OF INTRAOPERATIVE DIAGNOSTIC METHODS

Parochkina EV¹✉, Rumiantseva AA¹, Semyonova DK¹, Bormotov DS¹, Temnov AA^{1,2}, Stupnikova GS¹, Zavorotnyuk DS¹, Bocharov KV^{1,3}¹ Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University), Dolgoprudny, Russia² Burnasyan Federal Medical Biophysical Center, Moscow, Russia³ Talrose Institute of Energy Problems of Chemical Physics, Moscow, Russia

Intraoperative determination of tumor margins reduces the volume of resected tissue while ensuring complete removal of malignant tissue without increasing the risk of recurrence. The existing approaches, including intraoperative histology or tomography, are highly effective, but they extend the time of the surgery. Therefore, real-time analysis methods are a particularly interesting avenue. One such solution is mass spectrometric profiling based on ambient ionization mass spectrometry. The molecular profile of the examined tissue is compared with a reference database of healthy and pathologically altered tissues. For many human organs, samples for this database can only be obtained from autopsy material. However, due to the unavoidable time delay between the moment of death and sample collection, tissue degradation may change the picture of pathological process. This experimental quantitative study investigated the stability of polar lipid profiles in the liver and brain tissues of healthy BALB/c mice ($n = 23$) during the early postmortem period (0–72 hours). It has been shown that lysolipids and free fatty acids correlate with the postmortem interval ($r > 0.6$ overall; $r = 0.75$ for FA 20:4 and FA 22:6); therefore, they cannot be used as molecular markers in diagnostic models based on autopsy samples. At the same time, the profile of phospholipids in tissue cell membranes remains largely unchanged in the early postmortem period, which preserves their value as biomarkers detectable in both biopsy and autopsy specimens.

Keywords: mass spectrometry, molecular diagnostics, molecular profiling, lipids, postmortem stability, oncometabolites, intraoperative diagnostics

Funding: the study was supported by the Russian Science Foundation within the framework of research project No. 23-69-10035.

Author contribution: Parochkina EV — study conceptualization, experiment, data analysis, article authoring; Rumiantseva AA, Semyonova DK, Stupnikova GS — experiment; Bormotov DS — experiment, data analysis; Temnov AA — study conceptualization, experiment; Zavorotnyuk DS — data analysis; Bocharov KV — fundraising, research management.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Commission for the Control of the maintenance and use of laboratory animals of the Preclinical Research Center of the Central Research Laboratory, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Minutes No. 1 of October 13, 2023). The study complied with Federal Law No. 61-FZ "On the Circulation of Medicines" and the 2023 Eurasian Economic Commission Board Guidelines for Working with Laboratory (Experimental) Animals During Preclinical (Non-clinical) Studies. The sanitary and epidemiological norms stipulated in SanPiN 3.3686-21 "Sanitary and epidemiological requirements for the prevention of infectious diseases" have been observed.

✉ **Correspondence should be addressed:** Ekaterina V. Parochkina
Pervomaiskaya, 5, Dolgoprudny, 141701, Russia; shamarina.ev@phystech.edu

Received: 12.05.2026 **Accepted:** 17.06.2026 **Published online:** 29.06.2026

DOI: 10.24075/brsmu.2026.037

Copyright: © 2026 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 короткому времени анализа молекулярное профилирование, основанное на методах масс-спектрометрии с прямой ионизацией, является перспективным подходом для ассистирования хирургу в принятии решений в ходе плановых вмешательств в онкологии [1]. Такие интраоперационные методы диагностики основаны на поиске дескрипторов патологического состояния путем сравнения молекулярного профиля, полученного от исследуемой ткани, с профилями, содержащимися в референсной базе данных, включающей патологически измененные и контрольные образцы. При этом особенно важной оказывается задача выбора образцов, накапливаемых в базе данных в качестве неопухолевого контроля. Одним из наиболее распространенных подходов является использование тканей, расположенных вблизи опухоли [2]. Однако в таких образцах также может быть обнаружено некоторое количество опухолевых клеток, кроме того некоторые изменения метаболического профиля ткани наблюдаются и для морфологически здоровых клеток вблизи границы опухоли [1]. Использование в качестве контроля ткани с патологией иной природы также не является оптимальным в метаболических исследованиях из-за комплексного влияния патологического процесса на различные метаболические пути [3]. Возможным решением проблемы доступности контрольных образцов может быть использование аутопсийного материала здоровых тканей. По сравнению с интраоперационной биопсией использование посмертных тканей позволяет также получать образцы из нескольких регионов органа и при необходимости образцы большого объема. Использование посмертных тканей человека в рамках исследовательской аутопсии — одно из важных инструментов исследования этиологии и патогенеза различных заболеваний, особенно в области нейробиологии [4] и онкологии [5]. Однако точность молекулярно-биологических исследований может быть искажена из-за включения образцов с различными посмертными интервалами (ПИ) в общую коллекцию аутопсийного материала человека и труднопредсказуемого влияния ПИ на молекулярный профиль тканей [6, 7].

Смерть организма не приводит немедленно к гибели его клеток. Это иллюстрируется трупным очоением, при котором скелетные мышцы продолжают метаболизировать АТФ до тех пор, пока все запасы не будут истощены. Продолжение метаболических процессов в клетках погибшего организма является фундаментальной причиной, объясняющей возможность осуществления трансплантации органов и тканей умерших людей [5]. В последнее десятилетие выдвинулось новое научное направление — танатотранскриптомика, изучающая глобальные изменения экспрессии генов после смерти организма [8]. В масштабном анализе данных проекта GTEx была выявлена ткане- и геноспецифичность экспрессии и деградации мРНК при увеличении ПИ [9]. В тканях органов лабораторных животных было выявлено значительное увеличение транскрипции более тысячи генов, в основном связанных со стрессом, иммунитетом, воспалением и апоптозом, в период до 96 ч после смерти [10]. Изучение процессов деградации в здоровых и патологически измененных тканях важно для того, чтобы отделить истинные, физиологически или патологически обусловленные изменения от артефактов, вызванных процессами, происходящими после смерти. Сравнительный анализ посмертной динамики экспрессии

генов показал сближение транскрипционных профилей здоровой и опухолевой ткани печени к ПИ 24 ч на фоне адекватного качества биоматериала и изначальных существенных различий в экспрессии отдельных генов [11]. Таким образом, посмертные изменения в здоровой и опухолевой тканях протекают по-разному, что маскирует изначальные различия, присутствовавшие в живой ткани. Помимо нуклеиновых кислот исследуются также посмертные изменения среди белков [12] и малых молекул — метаболитов [13] и липидов, — в составе которых наиболее быстро отображаются все изменения, происходящие в организме из-за внутренних и внешних факторов.

Липиды являются обязательным компонентом клеточной мембраны и участвуют во многих биологических процессах, например, энергетическом метаболизме, клеточном распознавании, развитии и разрешении воспаления. Липиды просты в обнаружении при помощи высокопроизводительных методов масс-спектрометрии, поэтому поиск липидных маркеров представляется перспективным в области нейродегенеративных и психических заболеваний [14], а также некоторых видов онкологических заболеваний: опухолей гепатобилиарной системы [15], мозга [16] и др. В отличие от нуклеиновых кислот и белков, к настоящему моменту существует ограниченное число работ на тему посмертной стабильности липидного профиля тканей. Судебно-медицинские исследования фокусируются на длительных посмертных интервалах и соответствующих органах и тканях (костях и мышцах) [17, 18]. В систематическом обзоре 2024 г. [19] были рассмотрены липидные данные для определения ПИ, однако среди работ, посвященных липидному составу органов, есть исследования, проводившиеся только в отношении мышечной и жировой тканей и крови. Отмечено, что до сих пор не существует уравнений, связывающих концентрации липидов с ПИ. Исследование стабильности липидов в уже изъятых образцах головного мозга человека и грызунов показало, что среди соединений, значительно изменяющихся с увеличением ПИ до 48 ч, были выделены только окисленные жирные кислоты [20]. Показано, что варьирование условий хранения изъятых образцов головного мозга крыс в первый час не влияет на липидный профиль [21]. Таким образом, на сегодняшний день остается актуальным изучение посмертной стабильности липидов, полученных из аутопсийного материала раннего посмертного периода (до 72 ч), когда представляется возможность получения аутопсийного материала человека.

Цель данной работы — исследовать изменения липидного состава тканей печени и головного мозга модельного животного в раннем посмертном периоде методом молекулярного профилирования с использованием масс-спектрометрии с прямой ионизацией. Выбор органов интереса обусловлен тем, что для головного мозга наиболее критичны полнота резекции опухоли при минимальном затрагивании здоровых тканей и, следовательно, интраоперационное определение границ. Для опухолей печени обычной практикой является резекция значительных объемов органа, однако определение степени инвазии опухоли может позволить снизить объем резекции без повышения риска рецидива. Также для печени характерны относительная однородность и быстрый метаболизм липидов, что делает ее удобным органом для оценки процессов изменения в липидных профилях тканей после смерти.

Таблица. Распределение животных по экспериментальным группам

Номер группы	Время хранения при температуре +22 °С, ч	Время хранения при температуре +4 °С, ч	Общее время от эвтаназии до некропсии, ч	Количество животных
Группа 1	0	0	0	2
	0	1	1	1
	0	2	2	1
	0	4	4	2
	0	8	8	2
	0	16	16	1
	0	24	24	1
	0	35	35	1
	0	48	48	1
Группа 2	0	1	1	1
	0	2	2	1
	0	4	4	1
	4	1	5	1
	4	2	6	1
	4	4	8	1
	4	16	20	1
	4	26	30	1
	4	46	50	1
	4	65	69	1

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводили на 23 самцах мышей серии Balb/c (вес — 19–22 г, возраст — около 2 месяцев). После поступления из вивария животные проходили карантин в течение 7 дней при естественном освещении и свободном доступе к корму и воде. Для эвтаназии использовали раствор золетила (Zoletil 100, 200 мг/кг), затем животных подвергали дислокации шейных позвонков.

Мыши были случайным образом разделены на две группы с различными температурными условиями хранения тела животного после эвтаназии: группа 1 — хранение при +4 °С до проведения некропсии, группа 2 — хранение при +22 °С первые 4 ч, затем при +4 °С до проведения некропсии (таблица). Условия в группе 2 выбраны в связи со схожестью с условиями проведения аутопсии человека в клинических учреждениях. При вскрытии отбирали образцы тканей объемом порядка 70 мм³ каждый. Образцы помещали в криопробирки, охлаждали в жидком азоте и переносили на хранение при –80 °С.

Масс-спектрометрическое профилирование осуществляли с использованием методики проточной микроэкстракции [22]. Для этого в качестве ионного источника применяли картриджи со встроенным одноразовым электрораспылительным эмиттером. Образец ткани размораживали, из него вырезали три фрагмента объемом от 1 до 2 мм³ (что соответствует трем техническим повторам), которые затем промывали 0,9%-м (масс.) раствором хлорида натрия. Каждый фрагмент помещали в картридж и запечатывали капилляром для ввода растворителя [22]. Картридж подключается к линии подачи растворителя при помощи хроматографических винтов и размещается в изготовленном для этой цели держателе, обеспечивающем трехмерное позиционирование и подачу напряжения от масс-спектрометра. Рабочий раствор, используемый для проточной микроэкстракции липидов, состоял из смеси растворителей: метанол : изопропанол : ацетонитрил :

вода в соотношении 3 : 3 : 3 : 1, с добавлением 0,1% (об.) уксусной кислоты. Состав рабочего раствора был выбран как обеспечивающий эффективную ионизацию полярных липидов различных классов [22].

Эксперименты проводили с использованием гибридного масс-спектрометра LTQ XL Orbitrap ETD (ThermoFisher, США) в режиме полного сканирования с m/z 100–2000. Спектры были получены с использованием масс-анализатора высокого разрешения (30 000 FWHM при m/z 400), в режимах регистрации положительных и отрицательных ионов. Для каждого режима выполняли два технических повтора в рамках одного образца (картриджа).

Оценку изменений в липидном портрете тканей проводили при помощи анализа поведения индивидуальных глицерофосфолипидов и потенциальных продуктов их деградации — лизофосфолипидов и свободных жирных кислот (ЖК). Исследовали зависимость от величины посмертного интервала относительных интенсивностей фосфатидилинозитолов, фосфатидилхолинов, фосфатидилэтанолламинов с жирнокислотными остатками FA 16 : 0, 18 : 0 в первом положении и FA 18 : 2, 20 : 3, 20 : 4, 20 : 5, 22 : 4, 22 : 5, 22 : 6 — во втором как наиболее распространенных липидов в тканях печени и головного мозга [23]. Чтобы обнаружить наличие тренда (монотонной зависимости величины отклика от времени), использовали линейную регрессию.

Для построения матрицы интенсивности пиков, которые могут содержать липиды из списка, каждый скан масс-спектра нормировали на полный ионный ток, в нем выделяли пики с отношением сигнал/шум не менее 2, и в матрицу сохраняли только те пики, интенсивность которых отличалась от нуля как минимум в 25% масс-спектров. После этого отфильтровывали столбцы, значение m/z которых отличалось от теоретического не более чем на 0,05 Да. Таким столбцам присваивали имена соответствующих соединений.

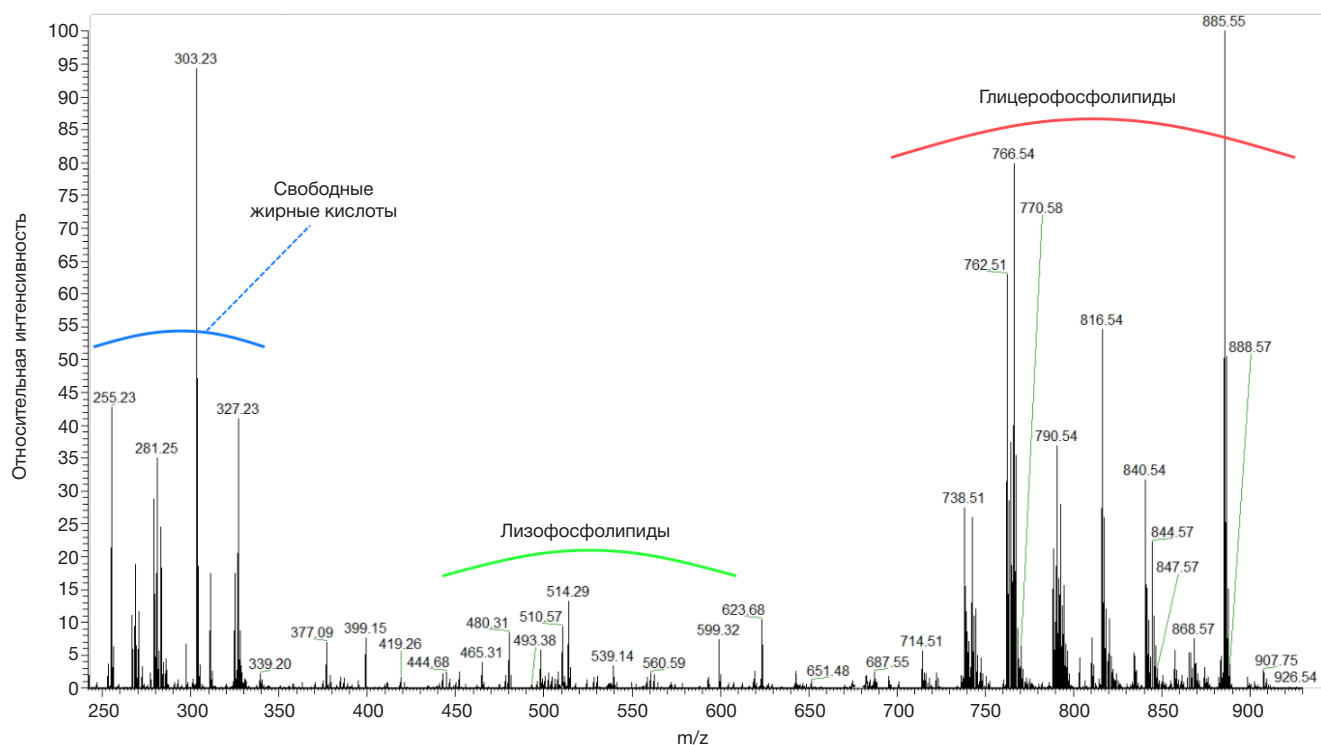


Рис. 1. Масс-спектр образцов ткани печени, в режиме регистрации отрицательных ионов

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для масс-спектрометрических профилей тканей печени и головного мозга в режиме регистрации положительных ионов характерны две группы пиков в диапазонах m/z 450–600 и 750–900, принадлежащие сигналам лизофосфолипидов и глицерофосфолипидов соответственно. В режиме регистрации отрицательных ионов помимо аналогичных групп пиков наблюдается группа пиков в диапазоне m/z 250–350, соответствующая депротонированным ионам свободных ЖК (рис. 1). При увеличении посмертного интервала возрастала относительная представленность в профилях пиков из диапазонов малых масс (до m/z 600).

На рис. 2 показана матрица корреляций Спирмена между липидами и ПИ для образцов ткани печени животных из группы 2 (хранение при +22 °C первые 4 ч, затем при +4 °C). Между уровнями свободных ЖК, лизолипидов и ПИ показана высокая положительная корреляция (коэффициент более 0,6; наибольший коэффициент корреляции для арахидоновой (FA 20 : 4) и докозагексаеновой (FA 22 : 6) кислот: $r = 0,75$), в то время как корреляция между всеми обозначенными выше величинами и уровнями глицерофосфолипидов была незначительная (модуль коэффициента менее 0,4) или умеренная отрицательная (коэффициент менее –0,5). Для образцов ткани печени животных из группы 1 (хранение при +4 °C) по сравнению с группой 2 корреляция уровней липидов с посмертным интервалом была слабее, но корреляция уровней различных групп липидов между собой оставалась на том же уровне. То же наблюдается для образцов головного мозга животных из группы 2. Для образцов головного мозга животных из группы 1 значительной корреляции с ПИ (модуль коэффициента более 0,5) не было выявлено для каких-либо липидов из списка; из различных классов липидов показана высокая положительная корреляция (коэффициент более 0,7) уровней свободных ЖК между собой.

Среди лизолипидов, относительная интенсивность которых возрастает с увеличением ПИ, присутствуют лизофосфолипиды с остатками жирных кислот, характерных для sn-1 и sn-2 положения в глицерофосфолипидах. Относительные интенсивности 1- и 2-лизофосфолипидов одного порядка, но на порядок ниже, чем относительные интенсивности фосфолипидов — возможных предшественников соответствующих лизолипидов (рис. 3). Поэтому относительные интенсивности фосфолипидов значительно не меняются с увеличением ПИ.

Для образцов ткани печени относительная интенсивность свободных жирных кислот FA 16 : 0, FA 16 : 1, FA 18 : 0, FA 18 : 1, FA 18 : 2, FA 20 : 3, FA 20 : 4, FA 22 : 4, FA 22 : 5, FA 22 : 6 растет с увеличением ПИ. Для образцов тканей животных из группы 1 (хранение тела при +4 °C) значимый рост начинается с ПИ 36–48 ч для всех ЖК, кроме FA 22 : 5, FA 22 : 6, у которых рост начинается с ПИ 16 ч. Для образцов, полученных от животных из группы 2 (хранение тела при +22 °C первые 4 ч, затем при +4 °C), значимый рост начинается с ПИ 10 ч. Для обеих групп динамика изменений была одинакова между FA16 : 0 и FA 18 : 0; FA 22 : 4, FA 22 : 5, FA 22 : 6 внутри группы (рис. 4).

Для образцов головного мозга относительная интенсивность всех названных выше жирных кислот не меняется со временем хранения, за исключением FA 20 : 4 и FA 22 : 4, FA 22 : 5, FA 22 : 6 — их относительная интенсивность достигает максимума при ПИ 2–8 ч.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Повышение относительной представленности в профилях пиков из диапазонов малых масс (до m/z 600) при увеличении ПИ свидетельствует о гидролизе глицерофосфолипидов с образованием лизолипидов и свободных жирных кислот. Однако уровень возможных предшественников остается, в целом неизменным. Изменения относительных интенсивностей лизолипидов и свободных жирных кислот в печени более выражены, чем

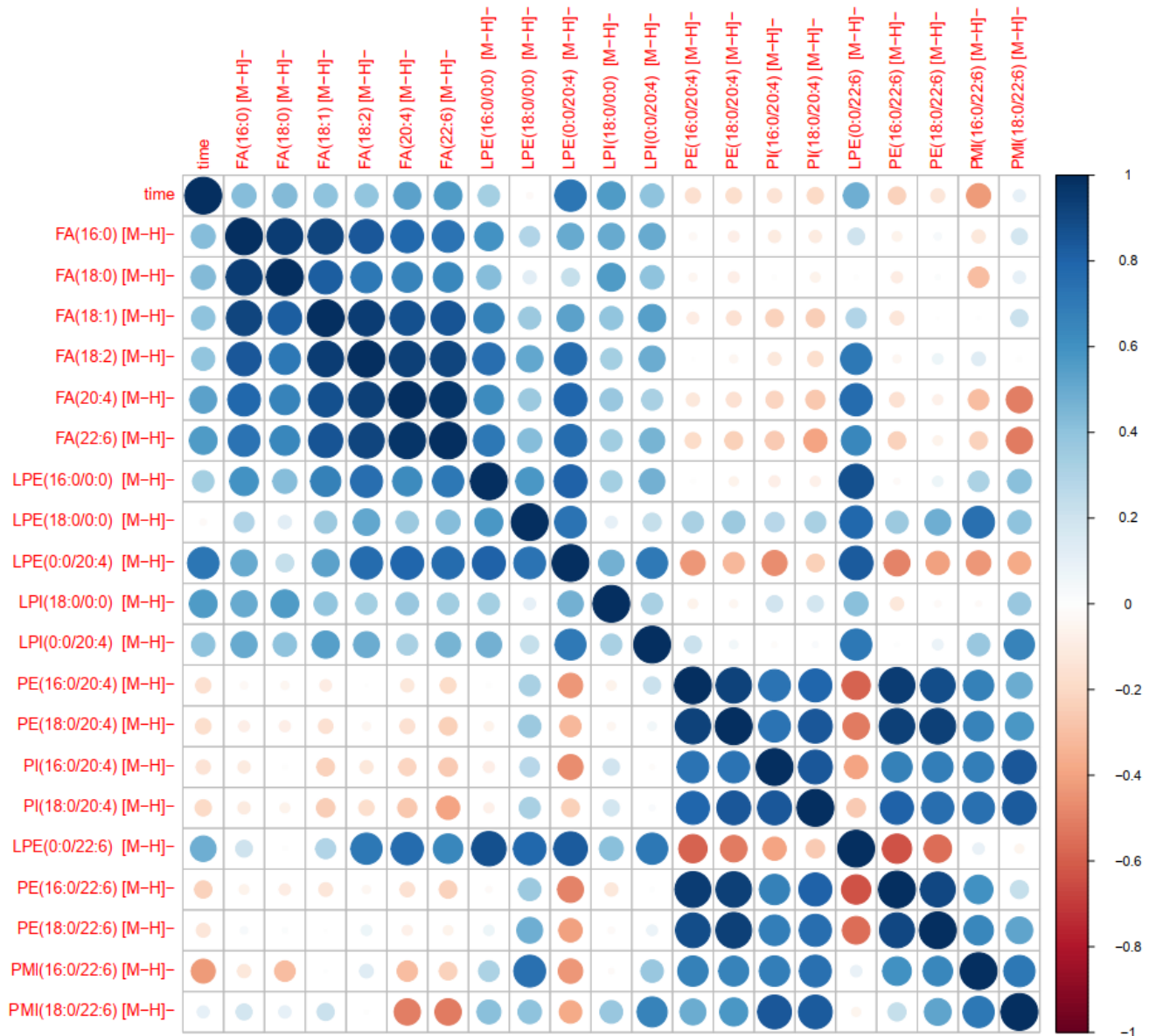


Рис. 2. Матрица корреляций Спирмена между липидами и посмертным интервалом; печень, группа 2

в мозге, а в группе 2 (хранение тела животного при +22 °С первые 4 ч, затем при +4 °С), как и ожидалось, более выражены, чем в группе 1 (хранение тела животного при +4 °С). Это согласуется с данными о лучшей посмертной стабильности тканей мозга [24] и может быть связано с высоким содержанием липаз в нормальной паренхиме печени.

Характерной особенностью являются относительные интенсивности полиненасыщенных жирных кислот, превышающие насыщенные. В литературных данных [23] представленность в липидах ткани печени ЖК с 16 и 18 атомами углерода составляет порядка 25 и 45% соответственно, арахидоновой — 13%, а докозагексаеновой кислоты — менее 5%. При этом в полученных данных молекулярного профилирования арахидоновой и докозагексаеновой кислот высвобождается больше, чем ЖК, характерных для sp-1 положения в фосфолипидах. ДГК, в отличие от жирных кислот с 16-ю и 18-ю атомами углерода, не является распространенным компонентом триглицеридов, что позволяет сделать вывод о том, что источник ее высвобождения при деградации ткани — именно фосфолипиды. Посмертные

изменения в липидном профиле могут быть связаны с неспецифической деградацией липидов, а также с ферментативной активностью фосфолипаз в клетках, подвергающихся стрессу из-за гибели организма: PLA2 для высвобождения ПНЖК для дальнейшего синтеза эйкозаноидов и докозаноидов [25], PLA1 для выработки лизофосфолипидных медиаторов [26].

Посмертная деградация фосфолипидов с образованием лизофосфолипидов лишь незначительно влияет на уровень исходного липида, а величина этого изменения может быть сравнима, либо лишь незначительно превышать естественную биологическую вариабельность концентрации соответствующего фосфолипида. В то же время количество лизофосфолипида изменяется значительно по сравнению с исходным количеством, что делает набор лизофосфолипидов комплексным маркером посмертного интервала. Относительные интенсивности свободных ЖК, в свою очередь, оказываются сравнимы, или даже на порядок превышают интенсивности фосфолипидов. Это может быть связано с разнообразием источников высвобождения жирных кислот в процессе посмертной деградации тканей. Таким образом, высокая

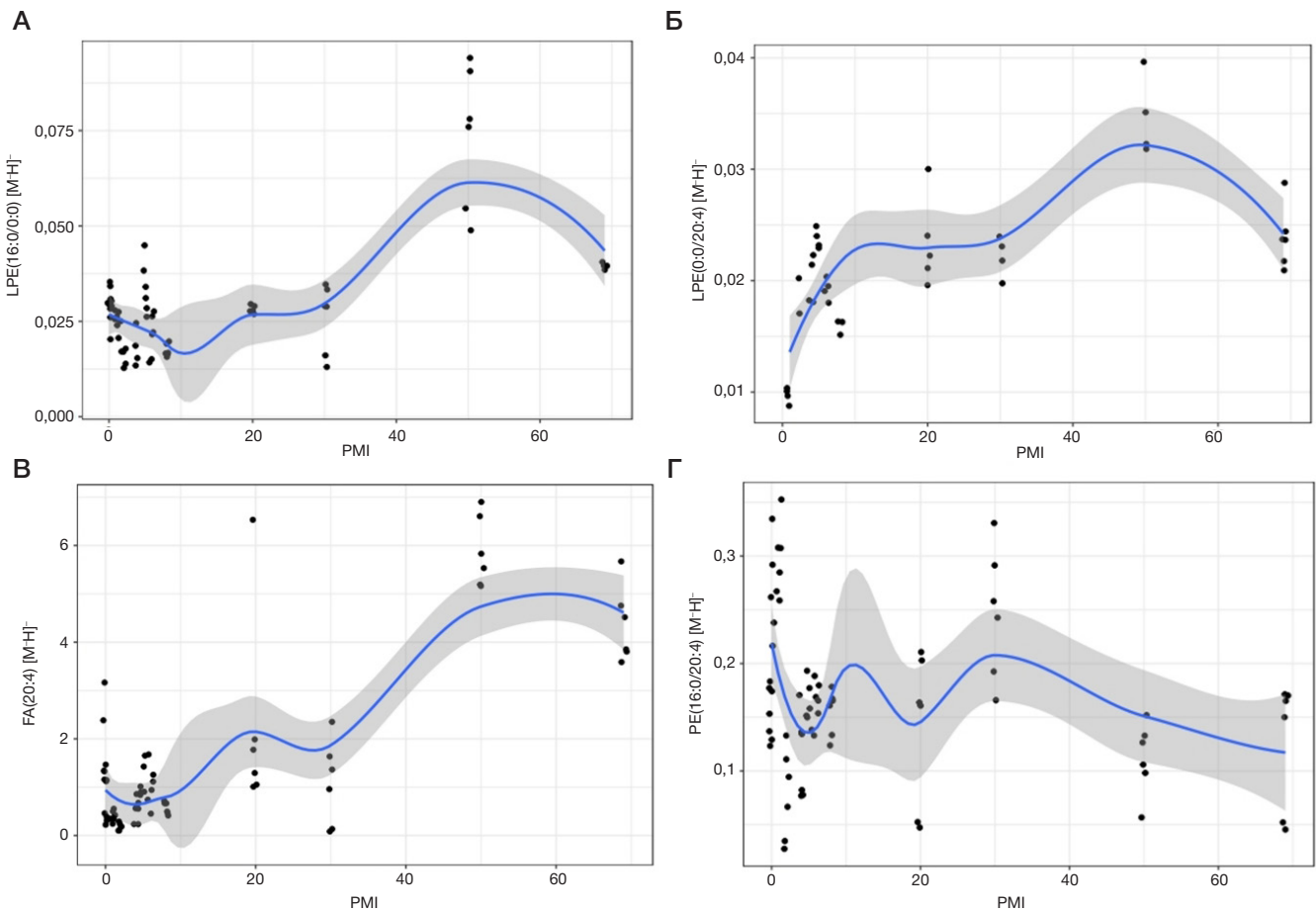


Рис. 3. График зависимости от ПИ относительных интенсивностей PE 16 : 0 / 20 : 4 и продуктов его разложения в образцах печени, группа 2 (хранение тела при +22 °С первые 4 ч, затем при +4 °С). **А.** LPE 16 : 0, $p < 0,0001$. **Б.** LPE 20 : 4, $p = 0,0001$. **В.** FA 20 : 4, $p < 0,0001$. **Г.** PE 16 : 0 / 20 : 4, $p = 0,08$. Синей линией показана аппроксимация по алгоритму LOESS (locally estimated scatterplot smoothing), серый — 95%-й доверительный интервал. Одна точка соответствует одному техническому повтору

активность фосфолипаз в тканях печени, по сравнению с тканями головного мозга, приводит к выявлению ряда маркеров посмертной деградации, связанных именно с ферментативной активностью, а не спонтанной, неспецифической, деградацией липидов, при которой не происходит значимого увеличения концентраций узкого набора продуктов катаболизма липидов.

Исследование процессов посмертной деградации полярных липидов тканей здоровых животных показало, что и лизофосфолипиды, и свободные жирные кислоты не могут, в общем случае, быть использованы как молекулярные маркеры для построения диагностических моделей на базе коллекций аутопсийного материала. Значимое изменение содержания лизофосфолипидов и свободных жирных кислот в процессе посмертной деградации тканей будет препятствовать построению достоверных диагностических моделей, а немонотонность этих изменений существенно затрудняет корректировку данных даже с учетом использования достоверной информации о степени посмертной деградации по данным о сохранности РНК [27]. В то же время фосфолипиды клеточных мембран не претерпевают статистически значимых изменений концентраций в тканях в раннем посмертном периоде, поэтому они сохраняют потенциал, как биомаркеры, подходящие для выявления с использованием не только биопсийного, но и аутопсийного материала. Таким образом, использование аутопсийного материала для анализа патологий относительно стабильных органов, таких как головной мозг, — потенциально

пригодное решение, поскольку основными маркерами, позволяющими классифицировать биопсийный материал как опухолевый или здоровый, являются именно фосфолипиды, а не лизофосфолипиды и жирные кислоты [16]. Однако для построения диагностических моделей, предназначенных для определения наличия опухолевых клеток в образцах относительно быстро деградирующих внутренних органов, таких как печень, аутопсийный материал, вероятно, ограниченно пригоден и требует контроля ПИ.

Ограничения исследования

Следует отметить, что использование тканей печени грызунов, динамика метаболизма липидов в гепатоцитах которых отличается от таковой для человека, не позволяет в данный момент делать вывод о максимальной величине посмертного интервала для аутопсийных образцов человека, пригодных для исследования липидного профиля тканей печени.

Выводы

Для липидных профилей головного мозга показан рост представленности лизофосфолипидов и свободных жирных кислот в профиле с увеличением посмертного интервала, в то же время такой зависимости не обнаружено для большинства глицерофосфолипидов. Это позволяет предположить возможность использования аутопсийного

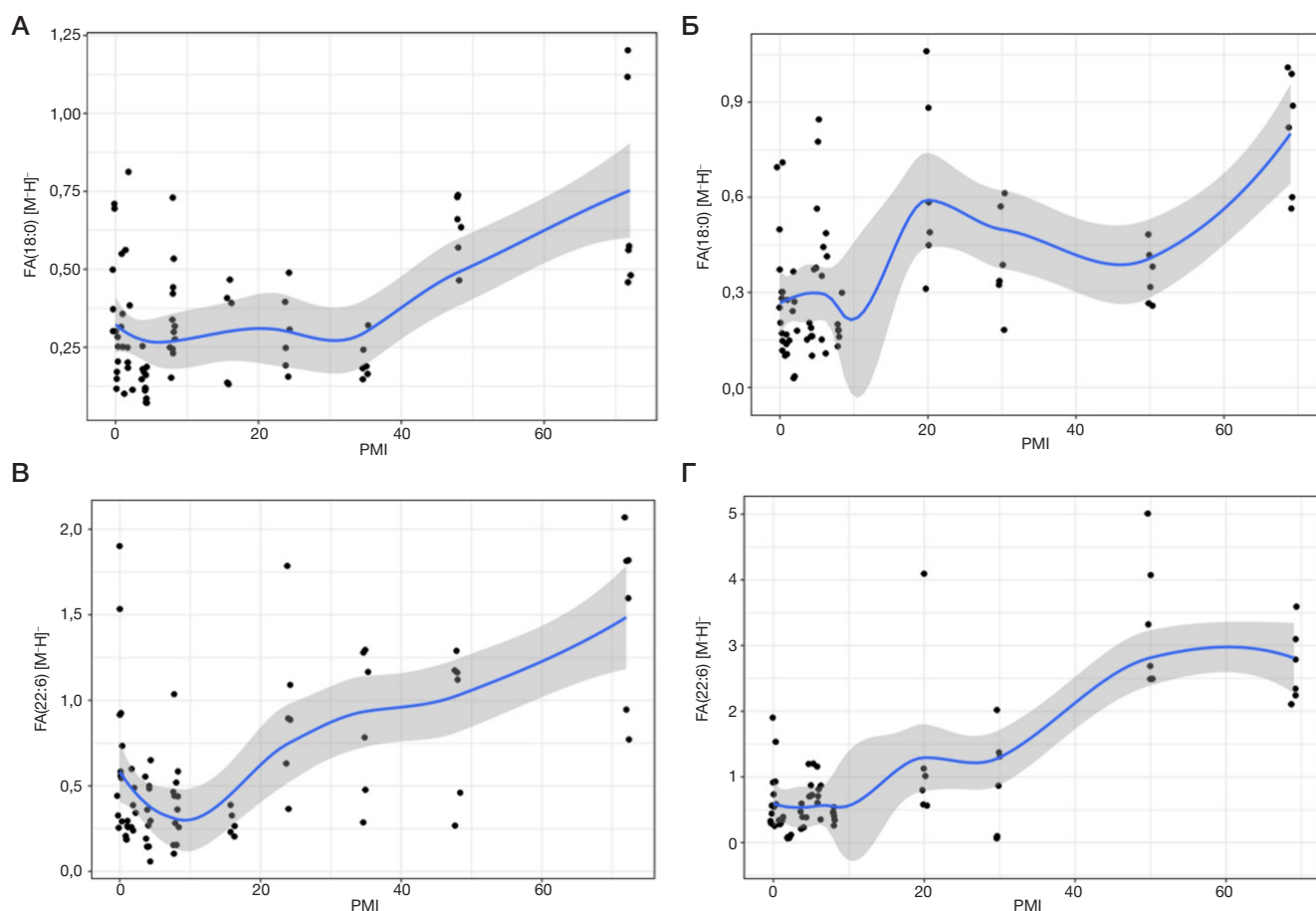


Рис. 4. Графики зависимости от ПИ относительных интенсивностей жирных кислот в образцах печени. **А.** FA 18 : 0, группа 1, $p < 0,0001$. **Б.** FA 18 : 0, группа 2, $p < 0,0001$. **В.** FA 22 : 6, группа 1, $p < 0,0001$. **Г.** FA 22 : 6, группа 2, $p < 0,0001$. Синей линией показана аппроксимация по алгоритму LOESS (locally estimated scatterplot smoothing), серый — 95%-й доверительный интервал. Одна точка соответствует одному техническому повтору

материала мозга с посмертным интервалом вплоть до 72 ч для исследования молекулярных механизмов развития патологического процесса или построения диагностических моделей в онкологии на основе панели фосфолипидов. Для ткани печени, несмотря на морфологическую сохранность, на молекулярном уровне была показана низкая стабильность: начиная

с 3–8 ч появляются значительные изменения в липидных профилях. Это делает аутопсийный материал печени менее пригодным для молекулярно-биологических исследований патогенеза, однако оставляет возможность выявлять маркеры деградации, например, для улучшенной оценки развития повреждения органа при трансплантации от посмертного донора.

Литература

1. Pekov SI, Bormotov DS, Bocharova SI, Sorokin AA, Derkach MM, Popov IA. Mass spectrometry for neurosurgery: Intraoperative support in decision-making. *Mass Spectrom Rev.* 2025; 44 (1): 62–73.
2. Cakmakci D, Karakaslar EO, Ruhland E, Chenard MP, Proust F, Piotto M, et al. Machine learning assisted intraoperative assessment of brain tumor margins using HRMAS NMR spectroscopy. *PLoS Comput Biol.* 2020; 16 (11): e1008184.
3. Muthu M, Nordström A. Current Status and Future Prospects of Clinically Exploiting Cancer-specific Metabolism — Why Is Tumor Metabolism Not More Extensively Translated into Clinical Targets and Biomarkers? *Int J Mol Sci.* 2019; 20 (6): 1385.
4. McCullumsmith RE, Meador-Woodruff JH. Novel Approaches to the Study of Postmortem Brain in Psychiatric Illness: Old Limitations and New Challenges. *Biol Psychiatry.* 2011; 69 (2): 127–33.
5. Iacobuzio-Donahue CA, Michael C, Baez P, Kappagantula R, Hooper JE, Hollman TJ. Cancer biology as revealed by the research autopsy. *Nat Rev Cancer.* 2019; 19 (12): 686–97.
6. Olney KC, Gibson KA, Cadiz MP, Rahimzadeh N, Swarup V, Fryer JD. Postmortem Interval Leads to Loss of Disease-Specific Signatures in Brain Tissue. *eNeuro.* 2025; 12 (3): ENEURO.0505-24.2025.
7. Carithers LJ, Ardlie K, Barcus M, Branton PA, Britton A, Buia SA, et al. A Novel Approach to High-Quality Postmortem Tissue Procurement: The GTEx Project. *Biopreserv Biobank.* 2015; 13 (5): 311–9.
8. Pozhitkov AE, Noble PA. Gene expression in the twilight of death. *BioEssays.* 2017; 39 (9): 1700066.
9. Zhu Y, Wang L, Yin Y, Yang E. Systematic analysis of gene expression patterns associated with postmortem interval in human tissues. *Sci Rep.* 2017; 7 (1): 5435.
10. Pozhitkov AE, Neme R, Domazet-Lošo T, Leroux BG, Soni S, Tautz D et al. Tracing the dynamics of gene transcripts after organismal death. *Open Biol.* 2017; 39 (9): e160267.
11. Buyko EE, Perina EA, Sobakin DS, Tsyganov MM, Vasilchenko DV, Vtorushin SV, et al. Dynamics of Postmortem Gene Expression in Normal and Neoplastic Murine Liver. *Life.* 2026; 16 (4): 683.
12. Parker GJ, McKiernan HE, Legg KM, Goecker ZC. Forensic proteomics.

- Forensic Sci Int Genet. 2021; 54: 102529.
13. Zelentsova EA, Yanshole LV, Melnikov AD, Kudryavtsev IS, Novoselov VP, Tsentlovich YP. Post-mortem changes in metabolomic profiles of human serum, aqueous humor and vitreous humor. *Metabolomics*. 2020; 16 (7): 80.
 14. Wei J, Wong LC, Boland S. Lipids as Emerging Biomarkers in Neurodegenerative Diseases. *Int J Mol Sci*. 2023; 25 (1): 131.
 15. Paul B, Lewinska M, Andersen JB. Lipid alterations in chronic liver disease and liver cancer. *JHEP Rep*. 2022; 24 (6): e100479.
 16. Pekov SI, Sorokin AA, Kuzin AA, Bocharov KV, Bormotov DS, Shivalin AS et al. Analysis of phosphatidylcholines alterations in human glioblastomas ex vivo. *Biochem Mosc Suppl B Biomed Chem*. 2021; 15 (3): 241–7.
 17. Bonicelli A, Mickleburgh HL, Chighine A, Locci E, Wescott DJ, Procopio N. The 'ForensOMICS' approach for postmortem interval estimation from human bone by integrating metabolomics, lipidomics, and proteomics. *Elife*. 2022; 30 (11): e83658.
 18. Nolan AN, Mead RJ, Maker G, Speers SJ. A review of the biochemical products produced during mammalian decomposition with the purpose of determining the post-mortem interval. *Aust J Forensic Sci*. 2019; 52 (4): 477–88.
 19. Caballero-Moreno L, Luna A, Legaz I. Lipidomes in Cadaveric Decomposition and Determination of the Postmortem Interval: A Systematic Review. *Int J Mol Sci*. 2014; 25 (2): 984.
 20. Zavolskova M, Senko D, Bukato O, Troshin S, Stekolshchikova E, Kachanovski M, et al. Postmortem Stability Analysis of Lipids and Polar Metabolites in Human, Rat, and Mouse Brains. *Biomolecules*. 2025; 15 (9): e1288.
 21. Pekov SI, Zhvansky ES, Eliferov VA, Sorokin AA, Ivanov DG, Nikolaev EN, et al. Determination of Brain Tissue Samples Storage Conditions for Reproducible Intraoperative Lipid Profiling. *Molecules*. 2022; 27 (8): 2587.
 22. Bormotov DS, Eliferov VA, Peregudova OV, Zavorotnyuk DS, Bocharov KV, Pekov SI et al. Incorporation of a Disposable ESI Emitter into Inline Cartridge Extraction Mass Spectrometry Improves Throughput and Spectra Stability. *J Am Soc Mass Spectrom*. 2023; 34 (1): 119–22.
 23. Surma MA, Gerl MJ, Herzog R, Helppi J, Simons K, Klose C. Mouse lipidomics reveals inherent flexibility of a mammalian lipidome. *Sci Rep*. 2021; 11 (1): 19364.
 24. Buyko EE, Perina EA, Vasilchenko DV, Tsydenova IA, Khmelevskaya ES, Ufandeev AA, et al. Dynamic changes in RNA integrity, gene expression, and tissue pathomorphology of experimental mice in the postmortem period. *Bull Sib Med*. 2024; 23 (4): 5–14.
 25. Khan SA, Iliés MA. The Phospholipase A2 Superfamily: Structure, Isozymes, Catalysis, Physiologic and Pathologic Roles. *Int J Mol Sci*. 2023; 24 (2): 1353.
 26. Richmond GS, Smith TK. Phospholipases A1. *Int J Mol Sci*. 2011; 12 (1): 588–612.
 27. Ferreira PG, Muñoz-Aguirre M, Reverter F, Sá Godinho CP, Sousa A, Amadoz A, et al. The effects of death and post-mortem cold ischemia on human tissue transcriptomes. *Nat Commun*. 2018; 9 (1): 490.

References

1. Pekov SI, Bormotov DS, Bocharova SI, Sorokin AA, Derkach MM, Popov IA. Mass spectrometry for neurosurgery: Intraoperative support in decision-making. *Mass Spectrom Rev*. 2025; 44 (1): 62–73.
2. Cakmakci D, Karakaslar EO, Ruhland E, Chenard MP, Proust F, Piotto M, et al. Machine learning assisted intraoperative assessment of brain tumor margins using HRMAS NMR spectroscopy. *PLoS Comput Biol*. 2020; 16 (11): e1008184.
3. Muthu M, Nordström A. Current Status and Future Prospects of Clinically Exploiting Cancer-specific Metabolism — Why Is Tumor Metabolism Not More Extensively Translated into Clinical Targets and Biomarkers? *Int J Mol Sci*. 2019; 20 (6): 1385.
4. McCullumsmith RE, Meador-Woodruff JH. Novel Approaches to the Study of Postmortem Brain in Psychiatric Illness: Old Limitations and New Challenges. *Biol Psychiatry*. 2011; 69 (2): 127–33.
5. Iacobuzio-Donahue CA, Michael C, Baez P, Kappagantula R, Hooper JE, Hollman TJ. Cancer biology as revealed by the research autopsy. *Nat Rev Cancer*. 2019; 19 (12): 686–97.
6. Olney KC, Gibson KA, Cadiz MP, Rahimzadeh N, Swarup V, Fryer JD. Postmortem Interval Leads to Loss of Disease-Specific Signatures in Brain Tissue. *eNeuro*. 2025; 12 (3): ENEURO.0505-24.2025.
7. Carithers LJ, Ardlie K, Barcus M, Branton PA, Britton A, Buia SA, et al. A Novel Approach to High-Quality Postmortem Tissue Procurement: The GTEx Project. *Biopreserv Biobank*. 2015; 13 (5): 311–9.
8. Pozhitkov AE, Noble PA. Gene expression in the twilight of death. *BioEssays*. 2017; 39 (9): 1700066.
9. Zhu Y, Wang L, Yin Y, Yang E. Systematic analysis of gene expression patterns associated with postmortem interval in human tissues. *Sci Rep*. 2017; 7 (1): 5435.
10. Pozhitkov AE, Neme R, Domazet-Lošo T, Leroux BG, Soni S, Tautz D et al. Tracing the dynamics of gene transcripts after organismal death. *Open Biol*. 2017; 39 (9): e160267.
11. Buyko EE, Perina EA, Sobakin DS, Tsyganov MM, Vasilchenko DV, Vtorushin SV, et al. Dynamics of Postmortem Gene Expression in Normal and Neoplastic Murine Liver. *Life*. 2026; 16 (4): 683.
12. Parker GJ, McKiernan HE, Legg KM, Goecker ZC. Forensic proteomics. *Forensic Sci Int Genet*. 2021; 54: 102529.
13. Zelentsova EA, Yanshole LV, Melnikov AD, Kudryavtsev IS, Novoselov VP, Tsentlovich YP. Post-mortem changes in metabolomic profiles of human serum, aqueous humor and vitreous humor. *Metabolomics*. 2020; 16 (7): 80.
14. Wei J, Wong LC, Boland S. Lipids as Emerging Biomarkers in Neurodegenerative Diseases. *Int J Mol Sci*. 2023; 25 (1): 131.
15. Paul B, Lewinska M, Andersen JB. Lipid alterations in chronic liver disease and liver cancer. *JHEP Rep*. 2022; 24 (6): e100479.
16. Pekov SI, Sorokin AA, Kuzin AA, Bocharov KV, Bormotov DS, Shivalin AS et al. Analysis of phosphatidylcholines alterations in human glioblastomas ex vivo. *Biochem Mosc Suppl B Biomed Chem*. 2021; 15 (3): 241–7.
17. Bonicelli A, Mickleburgh HL, Chighine A, Locci E, Wescott DJ, Procopio N. The 'ForensOMICS' approach for postmortem interval estimation from human bone by integrating metabolomics, lipidomics, and proteomics. *Elife*. 2022; 30 (11): e83658.
18. Nolan AN, Mead RJ, Maker G, Speers SJ. A review of the biochemical products produced during mammalian decomposition with the purpose of determining the post-mortem interval. *Aust J Forensic Sci*. 2019; 52 (4): 477–88.
19. Caballero-Moreno L, Luna A, Legaz I. Lipidomes in Cadaveric Decomposition and Determination of the Postmortem Interval: A Systematic Review. *Int J Mol Sci*. 2014; 25 (2): 984.
20. Zavolskova M, Senko D, Bukato O, Troshin S, Stekolshchikova E, Kachanovski M, et al. Postmortem Stability Analysis of Lipids and Polar Metabolites in Human, Rat, and Mouse Brains. *Biomolecules*. 2025; 15 (9): e1288.
21. Pekov SI, Zhvansky ES, Eliferov VA, Sorokin AA, Ivanov DG, Nikolaev EN, et al. Determination of Brain Tissue Samples Storage Conditions for Reproducible Intraoperative Lipid Profiling. *Molecules*. 2022; 27 (8): 2587.
22. Bormotov DS, Eliferov VA, Peregudova OV, Zavorotnyuk DS, Bocharov KV, Pekov SI et al. Incorporation of a Disposable ESI Emitter into Inline Cartridge Extraction Mass Spectrometry Improves Throughput and Spectra Stability. *J Am Soc Mass Spectrom*. 2023; 34 (1): 119–22.
23. Surma MA, Gerl MJ, Herzog R, Helppi J, Simons K, Klose C. Mouse lipidomics reveals inherent flexibility of a mammalian lipidome. *Sci Rep*. 2021; 11 (1): 19364.
24. Buyko EE, Perina EA, Vasilchenko DV, Tsydenova IA, Khmelevskaya ES, Ufandeev AA, et al. Dynamic changes in RNA integrity, gene expression, and tissue pathomorphology of experimental mice in the postmortem period. *Bull Sib Med*. 2024; 23 (4): 5–14.
25. Khan SA, Iliés MA. The Phospholipase A2 Superfamily: Structure, Isozymes, Catalysis, Physiologic and Pathologic Roles. *Int J Mol Sci*. 2023; 24 (2): 1353.
26. Richmond GS, Smith TK. Phospholipases A1. *Int J Mol Sci*. 2011; 12 (1): 588–612.
27. Ferreira PG, Muñoz-Aguirre M, Reverter F, Sá Godinho CP, Sousa A, Amadoz A, et al. The effects of death and post-mortem cold ischemia on human tissue transcriptomes. *Nat Commun*. 2018; 9 (1): 490.

КЛИНИЧЕСКОЕ ТЕЧЕНИЕ БОЛЕЗНИ ВИЛЬСОНА–КОНОВАЛОВА И ПРИВЕРЖЕННОСТЬ ТЕРАПИИ

И. Г. Тулузановская¹✉, М. С. Балашова^{1,2}, О. С. Сенина¹, О. М. Сизякова¹, Г. Лейсан кызы Гусейнова¹, Н. М. Мамадшоева¹, Т. П. Розина^{1,3}, Н. А. Жученко¹

¹ Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

² Российский научный центр хирургии имени Б. В. Петровского, Москва, Россия

³ Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия

Болезнь Вильсона–Коновалова (БВК) — редкое аутосомно-рецессивное заболевание (распространенность 1 : 30 000), обусловленное патогенными вариантами гена *ATP7B* (OMIM 277900). Ранняя диагностика и патогенетическая терапия позволяют достичь устойчивой ремиссии. Ключевой фактор неблагоприятного прогноза — низкая приверженность лечению. Исследование на примере семейного случая продемонстрировало, что недостаточная приверженность терапии способствует прогрессированию органических поражений и повышает риск инвалидизации и смертности. Клиническое наблюдение подтверждает прямую связь между соблюдением режима лечения и клиническими исходами.

Ключевые слова: болезнь Вильсона–Коновалова, ген *ATP7B*, медь, патогенетическая терапия, приверженность лечению, цирроз печени

Вклад авторов: И. Г. Тулузановская — курация пациентов, анализ литературы, написание статьи; М. С. Балашова — анализ литературы, редактирование статьи; О. С. Сенина, О. М. Сизякова, Г. Лейсан кызы Гусейнова, Н. М. Мамадшоева — работа с данными, анализ литературы; Т. П. Розина — курация пациентов, редактирование статьи; Н. А. Жученко — редактирование статьи.

Соблюдение этических стандартов: все участники исследования либо их законные представители подписали добровольное информированное согласие на участие в научном исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Инна Геннадьевна Тулузановская
ул. Еланского, д. 2, строение 2, 119435, г. Москва, Россия; inna_t77@mail.ru

Статья получена: 13.04.2026 **Статья принята к печати:** 07.05.2026 **Опубликована онлайн:** 09.06.2026

DOI: 10.24075/vrgmu.2026.027

Авторские права: © 2026 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/>).

THE CLINICAL COURSE OF WILSON'S DISEASE AND TREATMENT ADHERENCE

Tuluzanovskaya IG¹✉, Balashova MS^{1,2}, Senina OS¹, Sizyakova OM¹, Leisan kyzy Huseynova G¹, Mamadshoeva NM¹, Rozina TP^{1,3}, Zhuchenko NA¹

¹ Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

² Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russia

³ Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Wilson's disease is a rare autosomal recessive disorder (prevalence 1 : 30,000) caused by pathogenic variants in the *ATP7B* gene (OMIM 277900). Early diagnosis and pathogenetic therapy enable stable remission. Poor treatment adherence is the key factor adversely affecting the prognosis. This family case study has demonstrated that inadequate attitude towards therapy contributes to the progression of organ damage and increases the risk of disability and mortality. Clinical observation confirms a direct link between compliance with the treatment regimen and clinical outcomes.

Keywords: Wilson's disease, *ATP7B* gene, copper, pathogenetic therapy, treatment adherence, liver cirrhosis

Author contribution: Tuluzanovskaya IG — patient supervision, literature analysis, article authoring; Balashova MS — literature analysis, article editing; Senina OS, Sizyakova OM, Leisan kyzy Huseynova G, Mamadshoeva NM — data processing, literature analysis; Rozina TP — patient supervision, article editing; Zhuchenko NA — article editing.

Compliance with ethical standards: all participants or their legal representatives provided written informed consent to participate in the study.

✉ **Correspondence should be addressed:** Inna G. Tuluzanovskaya
Elanskogo, 2, str. 2, 119435, Moscow, Russia; inna_t77@mail.ru

Received: 13.04.2026 **Accepted:** 07.05.2026 **Published online:** 09.06.2026

DOI: 10.24075/brsmu.2026.027

Copyright: © 2026 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 Вильсона–Коновалова (БВК, код МКБ-10 E83.0) — орфанное аутосомно-рецессивное заболевание, обусловленное патогенными вариантами гена *ATP7B* (OMIM 277900). Распространенность патологии относительно низка и составляет в среднем 1 : 30 000, однако ее изучение имеет высокую клиническую значимость [1].

Ключевой особенностью БВК является наличие эффективной патогенетической терапии, позволяющей существенно улучшить прогноз и качество жизни пациентов при своевременной диагностике и корректном лечении. Современные терапевтические стратегии направлены на выведение избытка меди из организма и

предотвращение ее дальнейшего накопления, что дает возможность контролировать прогресс заболевания, предотвращать поражение печени и центральной нервной системы, достигая стойкой ремиссии при длительном соблюдении схемы лечения [2, 3].

Приверженность лечению — крайне важный фактор, определяющий исход БВК [4]. Согласно данным ретроспективного исследования, около 74,1% пациентов с БВК регулярно получают медикаментозное лечение без существенных перерывов [5]. При этом среди пациентов, стабильно принимающих препараты, улучшение состояния или стабилизация заболевания зафиксированы почти

в 98% случаев. Эти данные наглядно демонстрируют, насколько важно поддерживать непрерывный курс терапии для достижения терапевтического эффекта [5].

Исследования экономического бремени БВК в различных странах демонстрируют существенные финансовые и социальные последствия данного заболевания [6, 7]. Однако авторы большинства работ концентрируются преимущественно на анализе прямых затрат, связанных с непосредственным лечением, оставляя за рамками исследования косвенные расходы: затраты на терапию сопутствующих заболеваний, долгосрочное ведение пациентов, а также экономические потери, обусловленные ухудшением состояния здоровья и утратой трудоспособности у пациентов, не приверженных терапии.

Неблагоприятное течение БВК чаще всего обусловлено не дефицитом эффективных методов лечения, а недостаточной приверженностью пациентов назначенной терапии. Это приводит к прогрессированию органных поражений и повышает риск инвалидизации и смертности.

В представленном клиническом наблюдении семейного случая БВК различия в выполнении лечебных рекомендаций прямо коррелируют с клиническими исходами, что подчеркивает критическую роль соблюдения режима терапии.

Цель исследования — на примере семейного случая БВК изучить корреляцию между соблюдением режима терапии и клиническим течением заболевания.

Описание клинического случая

Семья, в которой сибсы (родные братья) страдали БВК. У пациента I (пробанда), 2001 г. рождения, первые симптомы появились в 14 лет и включали нарастающую тошноту и рвоту. В дальнейшем присоединились общая слабость, носовые кровотечения, периферические отеки и диффузные боли в животе с усилением в правом подреберье. На основании этой клинической картины при обращении за медицинской помощью по месту жительства был установлен диагноз «болезнь Вильсона–Коновалова». Несмотря на отсутствие подтверждающих лабораторных и инструментальных исследований, начата медьэлиминирующая терапия Д-пеницилламином (Д-ПАМ)

в дозе 500 мг/сут. Регулярный мониторинг ключевых показателей (суточная экскреция меди, биохимический анализ крови) не проводился.

В 2018 г. (в возрасте 17 лет) у пациента отмечено ухудшение состояния, появились выраженные периферические отеки, асцит, нарастающая тошнота и диспепсия. Впервые госпитализирован в Клинический центр Сеченовского университета (Клиника ревматологии, нефрологии и профпатологии имени Е. М. Тареева) для верификации диагноза и коррекции терапии. В ходе обследования выявлены следующие лабораторные и инструментальные изменения: значительное снижение уровня церулоплазмينا, повышение концентрации меди в сыворотке крови, тромбоцитопения на фоне незначительного увеличения размеров селезенки, признаки печеночной недостаточности, проявления портальной гипертензии (таблица). Признаки поражения центральной нервной системы отсутствовали, кольцо Кайзера–Флейшера (ККФ) не выявлено. Молекулярно-генетическое исследование подтвердило диагноз — обнаружен патогенный вариант с.3207C>A (p.His1069Gln) гена *ATP7B* в гомозиготном состоянии. В ходе сбора анамнеза, уточненного со слов матери пробанда, установлено, что режим приема препарата ранее неоднократно нарушался, отмечались эпизоды пропуска доз, а также самостоятельные перерывы в лечении без согласования с врачом. После восстановления регулярного приема Д-ПАМ с увеличением дозы (до 1500 мг/сут.) удалось добиться стабилизации клинической картины.

Семейный анамнез отягощен, старшая сестра пациента умерла в возрасте 28 лет от печеночной недостаточности (на вскрытии — цирроз печени неуточненной этиологии). У брата пробанда при генетическом тестировании выявлен идентичный вариант гена *ATP7B* в гомозиготном состоянии. Родители клинически здоровы (рисунок).

В 2023 г., в возрасте 22 лет, пациент повторно поступил в наш медицинский центр в состоянии тяжелой декомпенсации БВК. При сборе анамнеза выявлено, что ухудшение состояния также было связано с несоблюдением рекомендованной диеты и нерегулярным приемом Д-ПАМ, включая длительные перерывы в терапии без согласования с врачом.

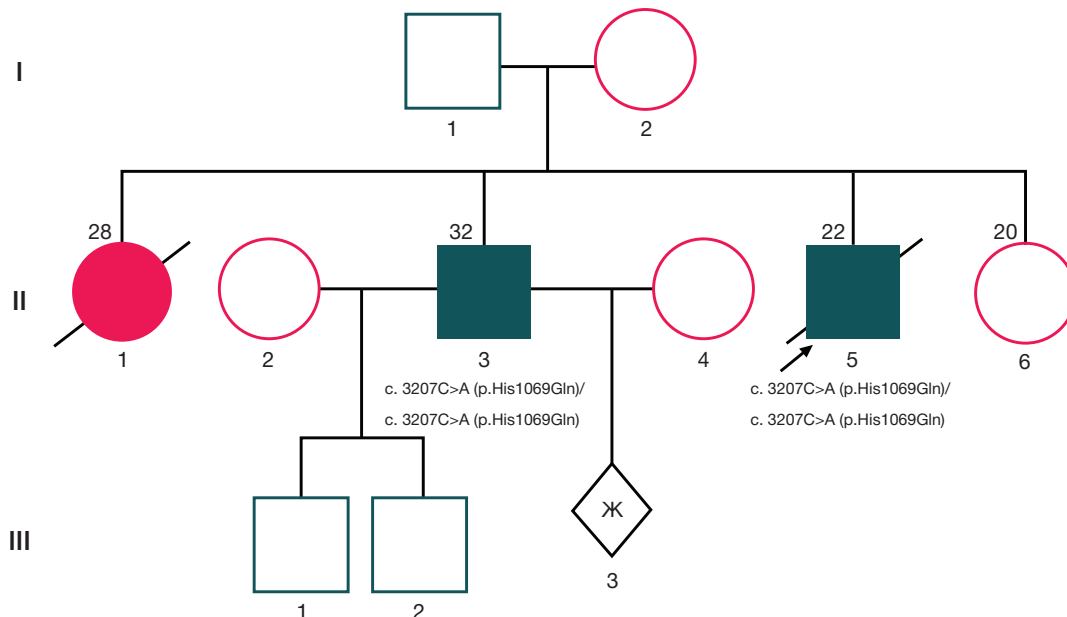


Рис. Родословная семьи

Таблица. Клинические проявления БВК у sibсов

Клинические показатели	Сибсы			
	Пациент I		Пациент II	
Возраст манифестации	14 лет	17 лет	22 года	29 лет
Клинические проявления	Общая слабость, тошнота, рвота, носовые кровотечения	Тошнота, диспепсия, выраженные периферические отеки, асцит	Общая слабость, выраженные периферические отеки, асцит, тяжесть в правом подреберье, боли в области ахилловых сухожилий с обеих сторон	Общая слабость, периферические отеки, носовые кровотечения
Кольцо Кайзера–Флейшера	–	–	+	+
Неврологические проявления	Нет	Нет	Нарушение походки, сна	Нет
Показатели функции печени	АЛТ — 49,9 ед./л (0–40), АСТ — 51,1 ед./л (0–41), ЩФ — 75 ед./л (0–120)	АЛТ — 62 ед./л (0–40), АСТ — 83 ед./л (0–41), ЩФ — 75 ед./л (0–120)	АЛТ — 46 ед./л (0–40), АСТ — 61 ед./л (0–41), ЩФ — 75 ед./л (0–120)	АЛТ — 16,7 ед./л (0–40), АСТ — 22 ед./л (0–41), ЩФ — 148,8 ед./л (0–120)
Церулоплазмин	Исследование не отражено в документах	0,10 г/л (0,20–0,35 г/л)	0,10 г/л (0,20–0,35 г/л)	0,119 г/л (0,20–0,35 г/л)
Экскреция Си с мочой: исход. данные	Исследование не отражено в документах	13,93 мкмоль/сут (0,6–1,0)	16,83 мкмоль/сут (0,6–1,0)	2,22 мкмоль/сут (0,6–1,0)
Диагноз	БВК, абдоминальная форма.	БВК, абдоминальная форма. Цирроз печени, класс С по Чайлд–Пью	БВК, смешанная форма. Цирроз печени, класс С по Чайлд–Пью (12 баллов). Печеночная энцефалопатия I степени	БВК, абдоминальная форма, стадия фиброза F3 (METAVIR)

Клинически отмечался прогресс заболевания с присоединением неврологических симптомов, нарушения походки и сна. Лабораторно подтверждены признаки цирроза печени с печеночной недостаточностью: гипопротейнемия, выраженная гипоальбуминемия, резкое снижение протромбинового индекса до 28% и фибриногена до 1,65 г/л. Выявлены также признаки внутрисосудистого гемолиза: гипербилирубинемия с преобладанием непрямой фракции (общий билирубин 163,5 мкмоль/л, прямой — 73 мкмоль/л) и снижение гемоглобина до 108 г/л. Инструментально и клинически подтверждены проявления портальной гипертензии (спленомегалия, варикозное расширение вен пищевода, асцит) и тромбоцитопения ($89 \times 10^9/л$). При офтальмологическом осмотре обнаружено ККФ.

После возобновления терапии Д-ПАМ с повышением дозы до 1500 мг/сут., применением диуретических средств и коррекции инфузионной терапией, состояние пациента стабилизировалось. Рекомендована трансплантация печени. Исход заболевания у пациента I оказался трагическим, он умер в возрасте 22 лет.

Пациент II, 1993 г. рождения, обратился в Клинический центр Сеченовского Университета (Клиника ревматологии, нефрологии и профпатологии имени Е. М. Тареева) на фоне смерти младшего брата. В процессе обследования, проведенного в 2018 г. (в 25 лет) в рамках семейного молекулярно-генетического скрининга, был верифицирован диагноз «болезнь Вильсона–Коновалова». Несмотря на установленную патологию, пациент принял решение воздержаться от прохождения дополнительных диагностических мероприятий на тот момент. При госпитализации в возрасте 29 лет пациент II предъявлял жалобы на общую слабость, периферические отеки и носовые кровотечения. Лабораторные исследования выявили снижение церулоплазмينا (0,119 г/л; норма — 0,20–0,35 г/л) и повышение суточной экскреции меди до 2,22 мкмоль/сут. (при норме от 0,6 до 1,0 мкмоль/сут.) (таблица). Инструментально подтверждено наличие ККФ, фиброза печени F3 по METAVIR. Выставлен диагноз: «БВК, абдоминальная форма». Иницирована

медьэлиминирующая терапия Д-ПАМ. Пациент находится под динамическим наблюдением, самочувствие стабильное, работает, ведет активный образ жизни.

Обсуждение клинического случая

В рамках описанного семейного случая БВК прослеживается ассоциация заболевания с распространенным генетическим вариантом гена *ATP7B*. При этом клиническая картина у разных членов семьи демонстрирует выраженную клиническую вариабельность. Ключевым фактором, влияющим на тяжесть проявлений и прогрессирование патологии, выступает приверженность пациентов назначенной терапии, ее отсутствие или нерегулярность существенно ухудшают прогноз заболевания.

Выявленный в семье патогенный вариант с.3207C>A (p.His1069Gln) гена *ATP7B* в гомозиготном состоянии относится к числу наиболее частых генетических вариантов, ассоциированных с БВК, распространенность которого в славянских популяциях может достигать 30–60% среди всех выявленных патогенных вариантов при БВК. Это делает его важным маркером для скрининга и молекулярно-генетической диагностики заболевания [1].

Гомозиготность по p.His1069Gln обычно ассоциируется с более поздним дебютом неврологических симптомов и относительно благоприятным течением БВК [8]. Тем не менее, в представленном семейном случае наблюдается выраженный клинический полиморфизм при идентичном генотипе, что описано в ряде исследований [9]. У пациента I дебют заболевания в 14 лет характеризовался преимущественно абдоминальными симптомами (тошнота, рвота, боли в животе), с прогрессированием поражения печени до цирроза и печеночной недостаточности. В возрасте 22 лет на фоне декомпенсации присоединились неврологические проявления (нарушение походки, сна), что соответствует переходу абдоминальной формы в смешанную [3].

У пациента II, также гомозиготного по варианту p.His1069Gln, клиническая картина на момент клинического обследования (29 лет) была менее выраженной (слабость,

отеки, носовые кровотечения) и включала признаки фиброза печени.

Пациенты демонстрируют существенные различия в возрасте дебюта, тяжести поражения печени и неврологической симптоматике. Различия могут быть объяснены сочетанием генетических и средовых факторов, включая особенности диеты и модифицирующее влияние других генов [10]. Ключевым фактором, определившим неблагоприятный исход у пациента I, стало отсутствие приверженности патогенетической терапии. Несмотря на раннее начало медъэлиминирующей терапии Д-ПАМ (500 мг/сут.), регулярный мониторинг основных показателей (суточная экскреция меди, биохимия крови) не проводился, а прием препарата неоднократно прерывался. Это привело к прогрессированию печеночной недостаточности, развитию цирроза, портальной гипертензии, внутрисосудистого гемолиза и неврологических нарушений.

Литературные данные подтверждают, что приверженность лечению при БВК напрямую влияет на продолжительность и качество жизни пациентов [5, 11]. Так, без лечения средняя продолжительность жизни после появления первых симптомов БВК составляет 5–6 лет [12].

Несоблюдение рекомендованного режима терапии существенно ухудшает прогноз, риск необходимости трансплантации печени у таких пациентов возрастает в 3–5 раз по сравнению с теми, кто строго следует медицинским рекомендациям [13]. Особую опасность представляет длительное прерывание приема медъэлиминирующих препаратов (хелаторов), таких как Д-ПАМ. У пациентов, прекративших терапию на срок 9 месяцев и более, описаны случаи развития фульминантной печеночной недостаточности, даже на фоне предшествующего стабильного состояния [14]. Крайне неблагоприятный прогноз наблюдается при развитии фульминантной печеночной недостаточности, ассоциированной с БВК. В отсутствие трансплантации летальность в таких случаях достигает 60–95% [15], что подчеркивает необходимость ранней диагностики, непрерывного мониторинга и строгого соблюдения терапевтического режима для предотвращения жизнеугрожающих осложнений.

В то же время своевременная диагностика и регулярная патогенетическая терапия позволяют достичь нормальной продолжительности жизни у большинства пациентов с БВК. Так у 98% пациентов, регулярно принимающих

препараты, наблюдается улучшение или стабилизация клинической картины [5]. Это подтверждает высокую эффективность существующих методов лечения при условии их систематического применения. Примечательно, что проведенный рядом авторов анализ не выявил значимой взаимосвязи между соблюдением врачебных рекомендаций и рядом потенциально значимых факторов. В частности, ни демографические характеристики (пол), ни клинические параметры (фенотипическая картина заболевания), ни особенности терапевтического подхода (тип лечения и его длительность), ни наличие побочных эффектов не оказали статистически достоверного влияния на приверженность пациентов с БВК назначенному лечению [5].

Существующие методы терапии при БВК имеют два существенных ограничения, риск побочных эффектов Д-пенициллина (10–30% пациентов) и необходимость пожизненного приема препаратов. Это подчеркивает необходимость принципиально новых подходов, среди которых наиболее перспективной выглядит генотерапия. Метод предполагает доставку функциональной копии гена *ATP7B* посредством AAV-векторов, что потенциально устраняет первопричину заболевания и снижает потребность в длительной фармакотерапии [16].

В то же время прогноз при БВК критически зависит от приверженности терапии, без лечения продолжительность жизни после появления симптомов составляет несколько лет, при строгом соблюдении рекомендаций — полноценная долгая жизнь.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Болезнь Вильсона–Коновалова — одно из немногих наследственных заболеваний с эффективной патогенетической терапией. Своевременная диагностика и регулярное лечение при условии соблюдения режима терапии позволяют перевести БВК из категории жизнеугрожающих состояний в разряд контролируемых хронических заболеваний с благоприятным прогнозом на долгосрочную перспективу. Для обеспечения приверженности терапии необходимо внедрять программы поддержки, включающие обучение пациентов и семей, регулярный мониторинг состояния и мультидисциплинарное сопровождение специалистами разного профиля.

Литература


- Ovchinnikova EV, Garbuz MM, Ovchinnikova AA, Kumeiko VV. Epidemiology of Wilson's Disease and Pathogenic Variants of the ATP7B Gene Leading to Diversified Protein Disfunctions. *Int J Mol Sci.* 2024; 25 (4): 2402. DOI: 10.3390/ijms25042402.
- Нарушения обмена меди (болезнь Вильсона). Клинические рекомендации. Министерство здравоохранения Российской Федерации. 2024; 79 с.
- Tang S, Hou W, Zheng SJ. [Recommendations from the European Association for the Study of the Liver and the European Reference Network for Rare Liver Diseases Clinical Practice Guidelines for hepatolenticular degeneration]. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi.* 2025; 33 (10): 988–92. DOI: 10.3760/cma.j.cn501113-20250408-00130.
- Członkowska A, Litwin T, Dusek P, Ferenci P, Lutsenko S, Medici V, et al. Wilson disease. *Nature Reviews Disease Primers.* 2018; 4 (1): 21. DOI: 10.1038/s41572-018-0018-3.
- Masełbas W, Członkowska A, Litwin T, Niewada M. Persistence with treatment for Wilson disease: a retrospective study. *BMC Neurol.* 2019; 19 (1): 278. DOI: 10.1186/s12883-019-1502-4.
- Lee DU, Harmacinski A, Bahadur A, Lee KJ, Chou H, Shaik MR, et al. The cost implications of Wilson disease among hospitalized patients: analysis of USA hospitals. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2024; 36 (7): 929–40. DOI: 10.1097/MEG.0000000000002777.
- Im DE, Kang HY. Epidemiologic features and economic burden of Wilson's disease in South Korea: a nationwide analysis of the entire patient population. *Sci Rep.* 2025; 15 (1): 23271. DOI: 10.1038/s41598-025-06630-5.
- Couchonnal E, Bouchard N, Poupon J, et al. Genotype–phenotype correlations in a large cohort of Wilson disease patients in France. *J Hepatol.* 2024; 80 (3): 416–25. DOI: 10.1016/j.jhep.2023.11.020.
- Ferenci P, Stremmel W, Członkowska A, Szalay F, Viveiros A, Stättermayer AF, et al. Age and sex but not ATP7B genotype effectively influence the clinical phenotype of Wilson disease. *Hepatology.* 2019; 69 (4): 1464–81. DOI: 10.1002/hep.30280.
- Stättermayer AF, et al. Genetic modifiers of clinical presentation in Wilson

- disease. *Hepatology*. 2022; 75 (4): 912–23. DOI: 10.1002/hep.32214.
11. Medici V, Cazzagon N, Battezzati PM, Crosignani A, Civolani A, Bonaiuto E, et al. Adherence, satisfaction, and quality of life in Wilson disease patients after switching to trientine tetrahydrochloride: observational data from a dual cohort study. *Front Pharmacol*. 2025; 16: 1515686. DOI: 10.3389/fphar.2025.1515686.
 12. Taly AB, Khandelwal S, Kumar S, et al. Wilson disease: clinical presentation and outcome in children. *Indian Pediatr*. 2004; 41 (10): 1037–43. DOI: 10.1007/BF02731336.
 13. Dzieżyc K, Milkiewicz P, Wierzbicka M, et al. Liver transplantation in Wilson disease: long-term results in a single center. *Transplant Proc*. 2015; 47 (4): 991–4. DOI: 10.1016/j.transproceed.2015.02.056.
 14. Dhawan A, Hadžić N, Mieli-Vergani G, et al. King's College Hospital prognostic index for Wilson disease with hepatic failure. *Hepatology*. 2005; 42 (6): 1357–63. DOI: 10.1002/hep.21167.
 15. Stättermayer AF, Traussnigg S, Dienes HP, et al. Fulminant Wilson's disease: liver transplantation and clinical outcome. *Liver Transpl*. 2013; 19 (10): 1116–25. DOI: 10.1002/lt.26651.
 16. Murillo O, Moreno D, Gazquez C, et al. Liver Expression of a MiniATP7B Gene Results in Long-Term Restoration of Copper Homeostasis in a Wilson Disease Model in Mice. *Hepatology*. 2019; 70 (1): 108–26. DOI: 10.1002/hep.30535.

References

1. Ovchinnikova EV, Garbuz MM, Ovchinnikova AA, Kumeiko VV. Epidemiology of Wilson's Disease and Pathogenic Variants of the ATP7B Gene Leading to Diversified Protein Disfunctions. *Int J Mol Sci*. 2024; 25 (4): 2402. DOI: 10.3390/ijms25042402.
2. Narusheniya obmena medi (bolezni Vil'sona). *Klinicheskie rekomendatsii*. Ministerstvo zdравookhraneniya Rossiiskoi Federatsii. 2024; p. 79. Russian.
3. Tang S, Hou W, Zheng SJ. [Recommendations from the European Association for the Study of the Liver and the European Reference Network for Rare Liver Diseases Clinical Practice Guidelines for hepatolenticular degeneration]. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi*. 2025; 33 (10): 988–92. DOI: 10.3760/cma.j.cn501113-20250408-00130.
4. Członkowska A, Litwin T, Dusek P, Ferenci P, Lutsenko S, Medici V, et al. Wilson disease. *Nature Reviews Disease Primers*. 2018; 4 (1): 21. DOI: 10.1038/s41572-018-0018-3.
5. Masetbas W, Członkowska A, Litwin T, Niewada M. Persistence with treatment for Wilson disease: a retrospective study. *BMC Neurol*. 2019; 19 (1): 278. DOI: 10.1186/s12883-019-1502-4.
6. Lee DU, Harmacinski A, Bahadur A, Lee KJ, Chou H, Shaik MR, et al. The cost implications of Wilson disease among hospitalized patients: analysis of USA hospitals. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2024; 36 (7): 929–40. DOI: 10.1097/MEG.0000000000002777.
7. Im DE, Kang HY. Epidemiologic features and economic burden of Wilson's disease in South Korea: a nationwide analysis of the entire patient population. *Sci Rep*. 2025; 15 (1): 23271. DOI: 10.1038/s41598-025-06630-5.
8. Couchonnal E, Bouchard N, Poupon J, et al. Genotype–phenotype correlations in a large cohort of Wilson disease patients in France. *J Hepatol*. 2024; 80 (3): 416–25. DOI: 10.1016/j.jhep.2023.11.020.
9. Ferenci P, Stremmel W, Członkowska A, Szalay F, Viveiros A, Stättermayer AF, et al. Age and sex but not ATP7B genotype effectively influence the clinical phenotype of Wilson disease. *Hepatology*. 2019; 69 (4): 1464–81. DOI: 10.1002/hep.30280.
10. Stättermayer AF, et al. Genetic modifiers of clinical presentation in Wilson disease. *Hepatology*. 2022; 75 (4): 912–23. DOI: 10.1002/hep.32214.
11. Medici V, Cazzagon N, Battezzati PM, Crosignani A, Civolani A, Bonaiuto E, et al. Adherence, satisfaction, and quality of life in Wilson disease patients after switching to trientine tetrahydrochloride: observational data from a dual cohort study. *Front Pharmacol*. 2025; 16: 1515686. DOI: 10.3389/fphar.2025.1515686.
12. Taly AB, Khandelwal S, Kumar S, et al. Wilson disease: clinical presentation and outcome in children. *Indian Pediatr*. 2004; 41 (10): 1037–43. DOI: 10.1007/BF02731336.
13. Dzieżyc K, Milkiewicz P, Wierzbicka M, et al. Liver transplantation in Wilson disease: long-term results in a single center. *Transplant Proc*. 2015; 47 (4): 991–4. DOI: 10.1016/j.transproceed.2015.02.056.
14. Dhawan A, Hadžić N, Mieli-Vergani G, et al. King's College Hospital prognostic index for Wilson disease with hepatic failure. *Hepatology*. 2005; 42 (6): 1357–63. DOI: 10.1002/hep.21167.
15. Stättermayer AF, Traussnigg S, Dienes HP, et al. Fulminant Wilson's disease: liver transplantation and clinical outcome. *Liver Transpl*. 2013; 19 (10): 1116–25. DOI: 10.1002/lt.26651.
16. Murillo O, Moreno D, Gazquez C, et al. Liver Expression of a MiniATP7B Gene Results in Long-Term Restoration of Copper Homeostasis in a Wilson Disease Model in Mice. *Hepatology*. 2019; 70 (1): 108–26. DOI: 10.1002/hep.30535.

ЛИГАНД 19 ХЕМОКИНА (МОТИВ C–C) И ИНТЕРЛЕЙКИН 23 У ПАЦИЕНТОВ С ПОСТЛАЙМСКИМ СИНДРОМОМ С ПОРАЖЕНИЕМ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Н. С. Баранова , Я. С. Остапенко, А. А. Баранов, Л. А. Овсяникова, Н. Н. Спиринов, О. П. Речкина, С. С. Золотавкина, О. В. Вдовенко, Н. В. Семечкин

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия


Лайм-боррелиоз (ЛБ) — природно-очаговое, трансмиссивное заболевание, которое вызывает *Borrelia burgdorferi sensu lato*. У части пациентов после эффективного лечения острой стадии болезни антибиотиками развивается синдром болезни Лайма, в его патогенезе обсуждается участие хемокинов и цитокинов. Цель исследования — оценить концентрацию лиганда 19 хемокина (мотив C–C) (CCL19) и интерлейкина (ИЛ) ИЛ-23 в сыворотке крови у пациентов с постлаймским синдромом (ПС) с поражением нервной системы, определить связь с клиническими проявлениями болезни и лабораторными показателями. Обследовано 70 человек (26 (37,1%) мужчин и 44 (62,9%) женщины) с достоверным диагнозом ЛБ и наличием неврологической симптоматики, сохранявшейся или возникшей вновь в течение 6 месяцев после проведенного рекомендованного курса антибактериальной терапии. Концентрацию CCL19 и ИЛ-23 в сыворотке крови определяли с помощью твердофазного иммуноферментного метода. Высокие значения CCL19 выявлены у 12 (17,1%), а ИЛ-23 — у 10 (14,3%) человек. Установлены значимые положительные корреляции между концентрацией CCL19 и ИЛ-23 ($r = 0,65, p < 0,0001$), а также их гиперпродукцией ($r = 0,79, p < 0,0001$). При гиперпродукции CCL19 и, особенно, ИЛ-23 достоверно увеличивалась вероятность развития синдрома болезни Лайма после лечения (отношение шансов — 5,00; 95% ДИ: 1,00–24,84, $p = 0,04$ и 22,42; 95% ДИ: 1,25–399,93, $p = 0,03$ соответственно). Не обнаружено корреляции между концентрацией CCL19, ИЛ-23 и значениями СРБ, уровнем IgM и IgG антител к *B. burgdorferi*, IgG антител к SARS-CoV-2. Обсуждается участие CCL19, ИЛ-23 и других механизмов в патогенезе синдрома болезни Лайма после лечения у пациентов с поражением нервной системы.

Ключевые слова: постлаймский синдром, нервная система, цитокины, CCL19, интерлейкин 23

Финансирование: работа выполнена при финансовой поддержке Министерства социальных коммуникаций и научно-технологического развития Ярославской области (соглашение (грант) № 26НП/2024 от 25 декабря 2024 г.).

Вклад авторов: Н. С. Баранова, Я. С. Остапенко, А. А. Баранов, Н. Н. Спиринов — планирование и дизайн исследования; Я. С. Остапенко, Л. А. Овсяникова, О. П. Речкина, С. С. Золотавкина, О. В. Вдовенко, Н. В. Семечкин — сбор данных и проведение исследования; Н. С. Баранова, Я. С. Остапенко, А. А. Баранов — анализ данных; Н. С. Баранова, Я. С. Остапенко, А. А. Баранов — написание статьи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России (протокол № 63 от 14 сентября 2023 г.). Все пациенты подписали добровольное информированное согласие.

 **Для корреспонденции:** Наталия Сергеевна Баранова
ул. Революционная, д. 5, г. Ярославль, 150000, Россия; baranova_ns@mail.ru

Статья получена: 18.05.2026 **Статья принята к печати:** 13.06.2026 **Опубликована онлайн:** 26.06.2026

DOI: 10.24075/vrgmu.2026.034

Авторские права: © 2026 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/>).

CHEMOKINE (C-C MOTIF) LIGAND 19 AND INTERLEUKIN-23 IN PATIENTS WITH POST-LYME DISEASE SYNDROME AND NEUROLOGICAL INVOLVEMENT

Baranova NS , Ostapenko YaS, Baranov AA, Ovsyanikova LA, Spirin NN, Rechkina OP, Zolotavkina SS, Vdovenko OV, Semechkin NV

Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russia

Lyme borreliosis (LB) is a naturally occurring transmissible disease caused by *Borrelia burgdorferi sensu lato*. Some patients develop LB after effective treatment of the acute stage of the disease with antibiotics, which may suggest involvement of chemokines and cytokines in its pathogenesis. This study aimed to assess serum levels of chemokine (C–C motif) ligand 19 (CCL19) and interleukin-23 (IL-23) in patients with post-Lyme syndrome (PLS) and neurological involvement, and to examine their association with clinical manifestations and laboratory parameters. We examined 70 individuals (26 [37.1%] male and 44 [62.9%] female) with confirmed LB who presented with neurological symptoms persisting or recurring within 6 months following the recommended antibiotic treatment. The serum levels of CCL19 and IL-23 were determined using a solid-phase enzyme immunoassay; CCL19 was high in 12 (17.1%) participants, and IL-23 in 10 (14.3%). Significant positive correlations were established between the concentrations of CCL19 and IL-23 ($r = 0.65, p < 0.0001$) and their hyperproduction ($r = 0.79, p < 0.0001$). The likelihood of developing Lyme disease after treatment increased significantly in association with overproduction of CCL19 and, especially, IL-23: odds ratio — 5.00; 95% CI: 1.00–24.84, $p = 0.04$, and 22.42; 95% CI: 1.25–399.93, $p = 0.03$, respectively. No correlation was found between the concentration of CCL19, IL-23, and the levels CRP, IgM and IgG antibodies to *B. burgdorferi*, as well as IgG antibodies to SARS-CoV-2. A subject matter being discussed in the paper is how CCL19, IL-23 and other mechanisms participate in post-treatment pathogenesis of Lyme disease with neurological damage.

Keywords: post-Lyme syndrome, nervous system, cytokines, CCL19, interleukin 23

Funding: the work was supported by the Ministry of Social Communications and Scientific and Technological Development of the Yaroslavl Region (grant agreement No. 26NP/2024 of December 25, 2024).

Author contribution: Baranova NS, Ostapenko YaS, Baranov AA, Spirin NN — study planning and design; Ostapenko YaS, Ovsyanikova LA, Rechkina OP, Zolotavkina SS, Vdovenko OV, Semechkin NV — data collection and research; Baranova NS, Ostapenko YaS, Baranov AA — data analysis; Baranova NS, Ostapenko YaS, Baranov AA — article authoring.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of Yaroslavl State Medical University (Minutes No. 63 of September 14, 2023). All patients signed a voluntary informed consent.

 **Correspondence should be addressed:** Natalia Sergeevna Baranova
Revolutsionnaya, 5, Yaroslavl, 150000, Russia; baranova_ns@mail.ru

Received: 18.05.2026 **Accepted:** 13.06.2026 **Published online:** 26.06.2026

DOI: 10.24075/brsmu.2026.034

Copyright: © 2026 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/>).

Лайм-боррелиоз (ЛБ) (болезнь Лайма, иксодовый клещевой боррелиоз) — природно-очаговое, трансмиссивное заболевание, которое вызывается *Borrelia burgdorferi sensu lato*, передается иксодовыми клещами и характеризуется стадийностью течения с поражением различных органов и систем [1]. ЛБ наиболее распространен среди всех трансмиссивных инфекций как в нашей стране [2], так и в мире [3–6].

Термин «синдром болезни Лайма после лечения» (постлаймский синдром) применяют для обозначения пациентов, перенесших ЛБ и прошедших курс антибиотикотерапии [7]. Его клинические проявления включают утомляемость, боли в мышцах, суставах, позвоночнике или жалобы на когнитивные нарушения, которые возникают в течение шести месяцев после подтвержденной инфекции *Borrelia burgdorferi* (*B. burgdorferi*) или сохраняются не менее полугода после эффективного курса антибиотиков, приведшего к исчезновению или стабилизации объективных проявлений болезни в острую стадию [8–10].

Патология со стороны нервной системы при ПС занимает одно из ведущих мест. В патогенезе данного синдрома участвует несколько механизмов, которые включают персистенцию инфекции, вегетативную дисфункцию, активацию врожденного и приобретенного иммунного ответа [10, 11]. В сыворотке крови пациентов ЛБ наблюдается повышение ряда хемокинов и цитокинов, в частности лиганда 19 хемокина (мотив C–C) (CCL19) [12, 13], интерлейкина (ИЛ) 23 [14] и интерферона- α (ИНФ- α) [15]. Полагают, что выделение биомаркеров различных стадий и вариантов течения ЛБ, включая пациентов с ПС с поражением нервной системы, важно для улучшения диагностики, прогнозирования развития последнего и оценки эффективности терапии [16]. Исследование CCL19, OsrA и ИНФ- α в сыворотке крови при ЛБ отнесено ко 2-й категории биологических тестов, которые еще не внедрены в рутинную практику лабораторий и требуют дальнейшей клинической оценки [17]. Таким образом, определение CCL19, а возможно и ИЛ-23, при ЛБ представляет потенциальный интерес для скрининга пациентов с риском развития ПС и требует дальнейшего изучения. Научные публикации по этому вопросу представлены в основном в зарубежной литературе [13–15], в Российской Федерации подобных исследований не проводилось. Настоящая работа является продолжением наших исследований [18].

Цель исследования — оценка концентрации CCL19 и ИЛ-23 в сыворотке крови у пациентов с ПС с поражением нервной системы, определение связи между уровнем данных показателей, особенностями клинических проявлений болезни и лабораторными показателями.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

С сентября 2023 г. по май 2025 г. в исследование было включено 70 человек (26 (37,1%) мужчин и 44 (62,9%) женщины) с достоверным диагнозом ЛБ и наличием неврологической симптоматики, сохранявшейся или возникшей вновь в течение 6 месяцев после проведения рекомендованного курса антибактериальной терапии. Медиана возраста пациентов составила 55,50 (46,00; 69,00) лет, а длительность заболевания — 2,00 (1,00; 4,00) года.

Критерии включения пациентов в исследование: достоверный диагноз ЛБ; проведенный курс антибактериальной терапии по поводу ЛБ; длительность заболевания после проведенной антибактериальной

терапии не менее 6 месяцев; готовность больного к сотрудничеству и способность выполнять требования данного исследования (подписание добровольного информированного согласия).

Критерии исключения: обострение или декомпенсация хронических неинфекционных заболеваний на момент включения пациента в исследование (хроническая ишемия мозга, сахарный диабет, острый коронарный синдром, хроническая сердечная недостаточность, патология легких, хроническая болезнь почек и др.); системные ревматические заболевания (ревматоидный артрит, псориатический артрит, системная красная волчанка, системная склеродермия, дермато/полимиозит, ревматическая полимиалгия, гигантоклеточный артериит и др.); наличие онкологических заболеваний на момент включения в исследование или в анамнезе; острый период инфекции SARS-COV-2; нежелание пациента продолжать наблюдение и/или участвовать в определенных процедурах исследования, изложенных в информированном согласии, или отсутствие добровольного информированного согласия.

На момент осмотра общинфекционный синдром в виде периодической субфебрильной лихорадки наблюдали у 5 (7,1%) пациентов. Поражение опорно-двигательного аппарата преимущественно было представлено артралгиями — у 18 (25,7%) и миалгиями — у 8 (11,4%) пациентов, реже артритом и миозитом — у 4 (5,7%) и у 1 (1,4%) человека соответственно.

У всех пациентов после лечения антибиотиками по поводу ЛБ сохранялись или развились различные синдромы патологии нервной системы. Поражение периферической нервной системы (ПНС) у 30 (42,9%) пациентов было представлено радикулопатией (РП), а у 22 (31,4%) — полиневропатией (ПНП). Невропатия лицевого нерва (НЛН) выявлена в 3 (4,3%) случаях. Патология центральной нервной системы (ЦНС) в виде энцефалопатии (ЭП) диагностирована у 54 (77,1%) человек, энцефаломиелит выявлен у 2 (2,9%) пациентов. Депрессия установлена у 42 (60,0%), тревога — у 10 (14,3%) и астения — у 50 (72,5%) пациентов. Сочетанную патологию ЦНС и ПНС наблюдали у 29 (41,4%) человек, изолированное поражение ПНС или ЦНС имело место у 14 (20,0%) и у 27 (38,6%) пациентов соответственно.

По результатам обследования было выделено четыре группы пациентов. Данное разделение было основано на признаках сохранения поражения нервной системы (с частичным или полным регрессом) или появления новой неврологической симптоматики (преимущественно субъективной или клинически выраженной) после лечения антибиотиками в течение 6 месяцев наблюдения.

В 1-ю группу из 39 человек (55,7%) вошли пациенты с наличием преимущественно субъективной непрогрессирующей симптоматики — постлаймский синдром (ПС). Она включала 13 мужчин и 26 женщин, медиана возраста 57,00 (47,00; 70,00) лет, с длительностью заболевания — 24,00 (12,00; 48,00) месяца.

Во 2-ю группу вошли 22 (31,4%) человека с наличием остаточных явлений поражения нервной системы — ПС с остаточными явлениями. Она включала 9 мужчин и 13 женщин, медиана возраста 55,50 (46,00; 64,00) лет, а длительность заболевания — 42,00 (12,00; 96,00) месяца.

В 3-ю группу (5 человек (7,1%)) были включены пациенты с рецидивом (прогрессированием) клинических признаков поражения нервной системы — ПС с рецидивом ЛБ (хронический ЛБ). Среди них было 2 мужчин и 3 женщины,

медиана возраста 45,50 (42,00; 52,00) лет, длительность заболевания — 36,00 (30,00; 60,00) месяцев.

В 4-ю группу (4 человека (5,7%), из них 2 мужчин и 2 женщины) вошли пациенты с полным регрессом клинических симптомов — ПС с полным регрессом неврологической симптоматики. Медиана возраста пациентов составила 51,50 (49,50; 57,50) лет, а длительность заболевания — 24,00 (15,00; 30,00) месяца. Выделенные группы пациентов значимо не различались между собой по полу, возрасту и длительности болезни ($p > 0,05$).

В качестве контроля обследовали 15 практически здоровых доноров (6 мужчин и 9 женщин, медиана возраста — 50,50 (48,50; 55,50) года, соответствующих критериям не включения в исследование. Всем им проводили стандартный неврологический осмотр и тщательный сбор анамнеза с целью исключения заболеваний, способных повлиять на результаты обследования.

Концентрацию CCL19 и ИЛ-23 в сыворотке крови определяли с помощью твердофазного иммуоферментного метода (ИФМ) с использованием реагентов производства RayBiotech (Кат. № ELH-MIP3b и Кат. № ELH-IL23-1, США), а уровень С-реактивного белка (СРБ) — иммунотурбидиметрическим методом стандартными наборами («Вектор-Бест», Россия) (С-реактивный белок Ново (латекс) кат. № В-9501). Уровень IgM антител к *B. burgdorferi* (анти-*B. burgdorferi*) исследовали ИФМ с помощью тест-системы Anti-Borrelia ELISA (IgM) (кат. № EI 2132-9601 M), а IgG анти-*B. burgdorferi* — ИФМ набором Anti-Borrelia PLUS VisE ELISA (IgG) (кат. № EI 2132-9601 2G). Согласно инструкции фирмы производителя, в качестве положительного результата рассматривали концентрацию IgM и IgG анти-*B. burgdorferi* более 22 относительных единиц на 1 мл (ОЕ/мл). Количественные значения IgG-антител к SARS-CoV-2 (анти-SARS-CoV-2) оценивали ИФМ (набор, кат. № D-5505 — SARS-CoV-2-IgG количественный ИФА-Бест).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 10.0 (StatSoft, США) и MedCalc 14.8.1. (MedCalc Software, США), включая общепринятые методы параметрического и непараметрического анализа. Результаты представлены в виде медианы (Me) с интерквартильным размахом [25-й и 75-й перцентили], среднего значения (M) и стандартного отклонения (σ). Для сравнения выборок по качественному признаку и при оценке долей встречаемости признака использовали точный критерий Фишера. Корреляционный анализ проводили по методу Спирмена. Выполнен ROC-анализ, оценивали площадь под ROC-кривой (AUC) с 95%-м доверительным интервалом (95% ДИ), рассчитывали чувствительность (Ч) и специфичность (С) показателя. Проведена оценка отношения шансов (ОШ) с 95%-м доверительным интервалом (ОШ [95% ДИ]). Критический уровень значимости составлял $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Концентрация CCL19 и ИЛ-23 в общей группе пациентов с ПС с поражением нервной системы и у доноров

У доноров значения CCL19 в сыворотке крови варьировали от 28,21 пг/мл до 258,73 пг/мл с медианой 112,27 (55,61; 130,64) пг/мл. Концентрация ИЛ-23 изменялась от 16,89 пг/мл до 1074,20 пг/мл с медианой 178,34 (126,13; 594,35) пг/мл. Верхняя граница нормы ($M + 3\sigma$) при исследовании сывороток здоровых доноров

составила для CCL19 — 293,72 пг/мл, а для ИЛ-23 — 178,34 пг/мл.

В общей группе пациентов ЛБ с поражением нервной системы концентрация CCL19 колебалась от 23,96 пг/мл до 902,50 пг/мл, медиана 83,09 (54,71; 198,01) пг/мл. Значения ИЛ-23 изменялись от 15,51 пг/мл до 9759,44 пг/мл с медианой 45,48 (22,38; 352,98) пг/мл. У пациентов концентрация CCL19 и ИЛ-23 была ниже, чем в контроле, но без значимых различий ($p > 0,05$). Высокие значения (более $M + 3\sigma$ в группе контроля) CCL19 выявлены у 12 (17,1%), а ИЛ-23 — у 10 (14,3%) человек из 70 пациентов с ЛБ.

Концентрация CCL19 не коррелировала с возрастом пациентов ($r = 0,16$, $p > 0,05$) и длительностью заболевания ($r = 0,09$, $p > 0,05$). Также не отмечено взаимосвязей между значениями ИЛ-23 с возрастом пациентов ($r = -0,01$, $p > 0,05$) и длительностью болезни ($r = 0,03$, $p > 0,05$).

В табл. 1 представлен сравнительный анализ клинических и лабораторных проявлений между группами пациентов с нормальными / высокими значениями CCL19 и ИЛ-23. Не выявлено значимых различий по полу, возрасту пациентов и длительности болезни, а также наличию общих синдромов болезни. У пациентов с высокими значениями CCL19 и ИЛ-23 отмечена тенденция к увеличению частоты встречаемости изолированного поражения ЦНС ($p > 0,05$). По другим клиническим проявлениям поражения нервной системы анализируемые группы не различались между собой.

У пациентов с нормальными значениями CCL19 и ИЛ-23 достоверно чаще, чем у пациентов с высокими, выявлялись IgG анти-*B. burgdorferi* ($p = 0,02$ и $p = 0,04$ соответственно). Гиперпродукция каждого из цитокинов имела достоверную обратную связь с наличием в сыворотке крови IgG анти-*B. burgdorferi* (CCL19 — $r = -0,27$, $p = 0,03$; ИЛ-23 — $r = -0,24$, $p = 0,04$).

Концентрация СРБ, IgM анти-*B. burgdorferi*, IgG анти-SARS-CoV-2, а также частота встречаемости их высоких значений достоверно не различались в сравниваемых группах ($p > 0,05$). Не обнаружено корреляции между концентрацией CCL19 и значениями СРБ ($r = 0,16$, $p > 0,05$), уровнем IgM анти-*B. burgdorferi* ($r = -0,12$, $p > 0,05$), IgG анти-*B. burgdorferi* ($r = 0,02$, $p > 0,05$) и IgG анти-SARS-CoV-2 ($r = 0,08$, $p > 0,05$). Уровень ИЛ-23 также не был связан со значениями СРБ ($r = 0,09$, $p > 0,05$), IgM анти-*B. burgdorferi* ($r = -0,14$, $p > 0,05$), IgG анти-*B. burgdorferi* ($r = -0,01$, $p > 0,05$) и IgG анти-SARS-CoV-2 ($r = 0,10$, $p > 0,05$).

Высокие значения каждого цитокина не ассоциировались с повышенным уровнем СРБ (CCL19 — $r = -0,10$, $p > 0,05$ и ИЛ-23 — $r = -0,08$, $p > 0,05$), наличием IgM анти-*B. burgdorferi* (CCL19 — $r = -0,06$, $p > 0,05$ и ИЛ-23 — $r = -0,08$, $p > 0,05$) и IgG анти-SARS-CoV-2 (CCL19 — $r = 0,13$, $p > 0,05$ и ИЛ-23 — $r = 0,11$, $p > 0,05$).

Выявлены значимые положительные корреляции умеренной и высокой силы между концентрацией CCL19 и ИЛ-23 ($r = 0,65$, $p < 0,0001$), а также гиперпродукцией данных цитокинов ($r = 0,79$, $p < 0,0001$).

Результаты исследования цитокинов у пациентов с ПС с поражением нервной системы в различных группах

Как отмечалось выше, на основании клинического обследования было выделено четыре группы пациентов ЛБ. При высоких значениях CCL19 и ИЛ-23, в сравнении с нормальными, выявлено достоверное увеличение частоты встречаемости пациентов 1-й группы (CCL19 — 83,3

Таблица 1. Клинико-лабораторная характеристика обследованных пациентов в зависимости от уровня ССЛ19 и ИЛ-23

Признак	CCL19 ≤ 293,72 пг/мл (n = 58)	CCL19 > 293,72 пг/мл (n = 12)	ИЛ-23 ≤ 1297,41 пг/мл (n = 60)	ИЛ-23 > 1297,41 пг/мл (n = 10)	P
	1	2	3	4	
Общие синдромы					
Общеинфекционный синдром, n (%)	4 (6,9)	1 (8,3)	5 (8,3)	0 (0,0)	н/з
Артралгии, n (%)	14 (24,1)	4 (33,3)	16 (26,7)	2 (20,0)	н/з
Артрит n (%)	3 (5,2)	1 (8,3)	4 (6,7)	0 (0,0)	н/з
Миалгии, n (%)	5 (8,6)	3 (25,0)	6 (10,0)	2 (20,0)	н/з
Артралгии/миалгии, n (%)	2 (3,5)	2 (16,7)	3 (5,0)	1 (10,0)	н/з
Миозит, n (%)	1 (1,7)	0 (0,0)	1 (1,7)	0 (0,0)	н/з
Синдромы поражения нервной системы					
РП, n (%)	27 (46,6)	3 (25,0)	28 (46,7)	2 (20,0)	н/з
ПНП, n (%)	19 (32,8)	3 (25,0)	19 (31,7)	3 (30,0)	н/з
НЛН, n (%)	3 (5,7)	0 (0,0)	3 (5,0)	0 (0,0)	н/з
ЭП, n (%)	45 (77,6)	9 (75,0)	46 (76,7)	8 (80,0)	н/з
ЭМ, n (%)	1 (1,7)	1 (8,3)	2 (3,3)	0 (0,0)	н/з
Депрессия, n (%)	36 (62,1)	6 (50,0)	37 (61,7)	5 (50,0)	н/з
Тревога, n (%)	8 (13,8)	2 (16,7)	7 (11,7)	3 (30,0)	н/з
Астения, n (%)	43 (75,4)	7 (58,3)	43 (72,9)	7 (70,0)	н/з
Изолированное поражение ПНП, n (%)	12 (20,7)	2 (16,7)	12 (20,0)	2 (20,0)	н/з
Изолированное поражение ЦНС, n (%)	20 (34,5)	7 (58,3)	21 (35,0)	6 (60,0)	н/з
Сочетанное поражение ПНС и ЦНС, n (%)	26 (44,8)	3 (25,0)	27 (45,0)	2 (20,0)	н/з
Лабораторные показатели					
СРБ (Ме, 25-й; 75-й перцентили), (мг/л)	2,30 (0,80; 3,70)	3,00 (1,25; 3,85)	2,30 (0,80; 3,90)	2,55 (1,80; 3,60)	н/з
СРБ > 5,0 мг/л, n (%)	11 (18,9)	1 (8,3)	11 (18,3)	1 (10,0)	н/з
IgM анти- <i>B.burgdorferi</i> (Ме, 25-й; 75-й перцентили), (ОЕ/мл)	13,90 (7,53; 105,81)	11,12 (7,17; 46,36)	13,90 (7,43; 112,49)	11,12 (7,03; 45,08)	н/з
IgM анти- <i>B.burgdorferi</i> > 22 ОЕ/мл, n (%)	24 (41,4)	4 (33,3)	25 (41,7)	3 (30,0)	н/з
IgG анти- <i>B.burgdorferi</i> (Ме, 25-й; 75-й перцентили), (ОЕ/мл)	9,05 (4,29; 44,81)	8,17 (4,13; 12,05)	9,05 (4,32; 39,16)	8,17 (3,77; 13,39)	н/з
IgG анти- <i>B.burgdorferi</i> > 22 ОЕ/мл, n (%)	18 (31,0)	0 (0,0)	18 (30,0)	0 (0,0)	p1-2* p3-4*
IgG анти-SARS-CoV-2 (Ме, 25-й; 75-й перцентили), (BAU/мл)	360,54 (209,30; 466,04)	398,66 (276,96; 614,10)	360,54 (209,50; 442,35)	468,05 (207,56; 653,33)	н/з
IgG анти-SARS-CoV-2 > 10 BAU/мл, n (%)	53 (91,4)	12 (100,0)	55 (91,7)	10 (100,0)	н/з

Примечание: * — различия между группами статистически значимы, $p < 0,05$; н/з — различия между группами статистически не значимы.

и 50,0%, $p = 0,03$; ИЛ-23 — 100 и 48,3%, $p = 0,001$). Гиперпродукция ССЛ19 была выявлена только у 1 (8,3%) пациента из 2-й группы и у 1 (8,3%) из 3-й группы. Высокие значения ИЛ-23 регистрировались только в 1-й группе пациентов.

В табл. 2 представлены данные проведенного сравнительного анализа между группами пациентов. Наиболее высокие концентрации ССЛ19 и ИЛ-23 выявлены в 1-й группе пациентов (синдром болезни Лайма после лечения). Гиперпродукция каждого из данных цитокинов значимо ассоциировалась с 1-й группой пациентов (ССЛ19 — $r = 0,25$, $p = 0,03$; ИЛ-23 — $r = 0,36$, $p = 0,001$). Подобной ассоциации ССЛ19 и ИЛ-23 с другими клиническими группами пациентов не выявлено.

Обнаружена четкая тенденция к увеличению концентрации СРБ, уровня IgM, IgG анти-*B.burgdorferi* и IgG анти-SARS-CoV-2 в 4-й группе, по сравнению с другими ($p > 0,05$). По данным показателям не выявлено значимых различий между 1-й, 2-й и 3-й группами пациентов по концентрации

и частоте встречаемости высоких значений СРБ, наличию и уровню IgM и IgG анти-*B.burgdorferi*, IgG анти-SARS-CoV-2 ($p > 0,05$ во всех случаях).

Выявлена диагностическая значимость гиперпродукции данных показателей только в отношении развития клинических проявлений для пациентов, включенных в 1-ю группу (рис.). Так, для ССЛ19 площадь под ROC-кривой составила 0,596 (чувствительность — 25,64%; специфичность — 93,55%; $p = 0,022$), а для ИЛ-23 — 0,628 (чувствительность — 25,64%; специфичность — 100,00%; $p = 0,0003$).

Отношение шансов для пола, гиперпродукции ССЛ19, ИЛ-23, иммунологических показателей для клинических групп пациентов с ПС

Нами были определены ОШ для мужчин и женщин, высоких концентраций ССЛ19, ИЛ-23, СРБ, наличием IgM и IgG анти-*B.burgdorferi*, IgG анти-SARS-CoV-2 и различными

Таблица 2. Концентрация (Ме (25-й; 75-й перцентили)) CCL19, ИЛ-23 и других иммунологических показателей в сыворотке крови у пациентов с ПС с поражением нервной системы в различных группах

Признак	Группа 1 (n = 39)	Группа 2 (n = 22)	Группа 3 (n = 5)	Группа 4 (n = 4)	p
	1	2	3	4	
CCL19 (пг/мл)	119,78 (60,86; 297,35)	64,13 (48,82; 107,08)	68,14 (56,22; 89,24)	67,26 (40,45; 153,33)	p1-2**
CCL19 > 293,72 пг/мл, n (%)	10 (25,6)	1 (4,5)	1 (20,0)	0 (0)	p1-2*
ИЛ-23 (пг/мл)	93,35 (23,73; 1416,73)	25,76 (18,54; 118,23)	64,21 (23,40; 352,98)	19,11 (16,04; 20,40)	p1-2* p1-4** p3-4*
ИЛ-23 > 178,34 пг/мл, n (%)	10 (25,6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	p1-2**
СРБ (мг/л)	2,20 (0,90; 3,60)	2,40 (0,70; 5,30)	1,70 (1,50; 3,40)	3,75 (1,95; 4,52)	н/з
СРБ > 5,0 мг/л, n (%)	6 (15,4)	6 (27,3)	0 (0)	0 (0)	н/з
IgM анти- <i>B.burgdorferi</i> (ОЕ/мл)	13,27 (7,33; 78,94)	12,35 (6,79; 54,29)	36,17 (25,91; 162,18)	239,11 (122,64; 247,07)	н/з
IgM анти- <i>B.burgdorferi</i> > 22 ОЕ/мл, n (%)	15 (38,5)	6 (27,3)	4 (80,0)	3 (75,0)	н/з
IgG анти- <i>B.burgdorferi</i> (EUROIMM), (ОЕ/мл)	10,66 (5,09; 19,48)	4,88 (3,95; 23,72)	10,37 (4,34; 17,86)	44,66 (5,13; 121,21)	н/з
IgG анти- <i>B.burgdorferi</i> > 22 ОЕ/мл, n (%)	12 (30,8)	6 (27,3)	1 (20,0)	2 (50,0)	н/з
IgG анти-SARS-CoV-2 (BAU/мл)	346,60 (192,95; 459,48)	384,60 (245,15; 914,34)	332,78 (87,29; 362,43)	424,82 (371,57; 479,06)	н/з
IgG анти-SARS-CoV-2 > 10 BAU/мл, n (%)	37 (94,9)	20 (90,9)	4 (80,0)	4 (100,0)	н/з

Примечание: * — различия между группами статистически значимы, $p < 0,05$; ** — различия между группами статистически значимы, $p < 0,01$; н/з — различия между группами статистически не значимы.

клиническими группами пациентов с ПС с поражением нервной системы (табл. 3).

Не отмечено влияния пола на увеличение ОШ для всех 4-х групп. Значимые ассоциации были выявлены только между CCL19, ИЛ-23 и 1-й группой. При высоких значениях CCL19 достоверно увеличивалась вероятность развития синдрома болезни Лайма после лечения (ОШ 5,00; 95% ДИ — от 1,00 до 24,84; $p = 0,04$) и, особенно, при гиперпродукции ИЛ-23 (ОШ 22,42; 95% ДИ — от 1,25 до 399,93; $p = 0,03$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В качестве возможных механизмов развития ПС широко обсуждается нарушение регуляции врожденного и

приобретенного иммунного ответа, сопровождающееся увеличением выработки хемокинов и цитокинов [10, 11]. Повышение концентрации CCL19 и ИЛ-23 в острую стадию нейроборрелиоза в цереброспинальной жидкости выявлено рядом авторов [15, 19]. Так, первые в острый период ЛБ обнаружили достоверное, по сравнению с контролем, увеличение до и после терапии антибиотиками концентрации CCL19 [12]. Впоследствии данная группа исследователей подтвердила свое открытие на большей когорте пациентов [13]. Однако другие исследователи не выявили повышения концентрации CCL19 при ЛБ [20].

Практически одновременно с учеными из США, в европейских работах тоже отмечено увеличение ИЛ-23 в сыворотке крови при нейроборрелиозе [14], которое затем подтвердили другие авторы [15]. Однако по некоторым

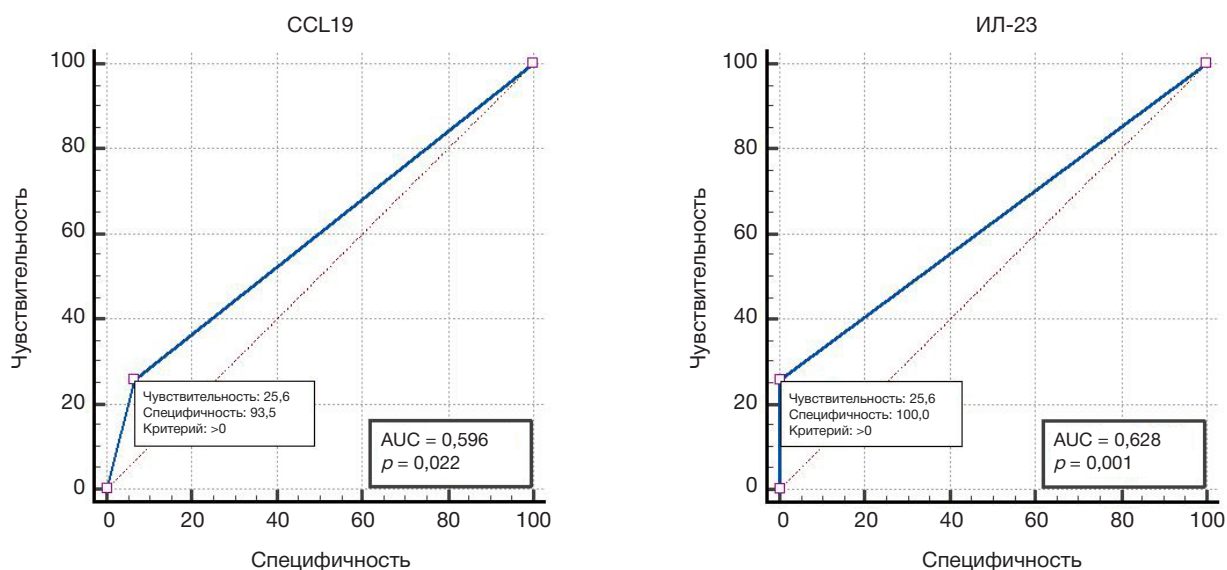


Рис. ROC-кривые зависимости между высокими значениями CCL19, ИЛ-23 и 1-й группой пациентов (синдром болезни Лайма после лечения) в когорте пациентов с ПС с поражением нервной системы

Таблица 3. Отношение шансов для женщин и мужчин, гиперпродукции CCL19, ИЛ-23, иммунологических показателей для клинических групп пациентов с ПС с поражением нервной системы

Признак	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
	ОШ (95% ДИ)	ОШ (95% ДИ)	ОШ (95% ДИ)	ОШ (95% ДИ)
Пол:				
мужчины	0,74 (0,56; 1,34), ($p = 0,50$)	1,68 (0,65; 4,33), ($p = 0,28$)	0,42 (0,08; 2,13), ($p = 0,30$)	1,54 (0,38; 6,21), ($p = 0,54$)
женщины	1,34 (0,56; 3,18), ($p = 0,50$)	0,59 (0,23; 1,52), ($p = 0,28$)	2,35 (0,47; 11,82), ($p = 0,30$)	0,64 (0,16; 2,60), ($p = 0,54$)
CCL19	5,00 (1,00; 24,84), ($p = 0,04$)	0,16 (0,02; 1,33), ($p = 0,09$)	1,23 (0,12; 12,06), ($p = 0,86$)	0,48 (0,02; 9,59), ($p = 0,63$)
ИЛ-23	22,42 (1,25; 399,93), ($p = 0,03$)	0,08 (0,01; 1,46), ($p = 0,08$)	0,48 (0,02; 9,36), ($p = 0,63$)	0,59 (0,03; 11,95), ($p = 0,73$)
СРБ	0,76 (0,22; 2,63), ($p = 0,66$)	2,63 (0,74; 9,34), ($p = 0,14$)	0,39 (0,02; 7,51), ($p = 0,54$)	0,48 (0,02; 9,59), ($p = 0,63$)
IgM анти- <i>B.burgdorferi</i>	0,87 (0,25; 2,15), ($p = 0,57$)	0,68 (0,24; 1,91), ($p = 0,46$)	6,83 (0,72; 64,74), ($p = 0,09$)	4,92 (0,49; 49,93), ($p = 0,18$)
IgG анти- <i>B.burgdorferi</i>	0,73 (0,33; 2,26), ($p = 0,77$)	1,13 (0,36; 3,53), ($p = 0,84$)	0,71 (0,07; 6,77), ($p = 0,76$)	3,13 (0,41; 24,02), ($p = 0,27$)
IgG анти-SARS-Cov-2	1,98 (0,31; 12,67), ($p = 0,47$)	0,67 (0,10; 4,30), ($p = 0,67$)	0,26 (0,02; 2,93), ($p = 0,28$)	0,81 (0,04; 16,98), ($p = 0,89$)

данным, ИЛ-23 не выявлялся в сыворотке крови пациентов с острым нейроборрелиозом [21], что также было отмечено нами у пациентов с хроническим нейроборрелиозом [22].

Высокие значения CCL19 обнаружены нами у 17,1% пациентов, а ИЛ-23 — в 14,3% случаев; не установлена корреляция их концентрации с возрастом пациентов и длительностью болезни. Ранее другие исследователи также не выявили ассоциации CCL19 с полом, возрастом пациентов и длительностью болезни [13]. Отсутствие связи между концентрацией ИЛ-23 и гендерными различиями отмечено в других работах [14, 20].

В нашем исследовании гиперпродукция CCL19 и ИЛ-23 не ассоциировалась с общими синдромами ЛБ и большинством клинических проявлений поражения нервной системы. Однако при их высоких значениях отмечена тенденция к увеличению частоты встречаемости изолированного поражения ЦНС, преимущественно в виде ЭП. Отсутствие связи между CCL19, ИЛ-23 и клиническими особенностями синдрома болезни Лайма после лечения также отмечено в других работах [13–15, 20]. Как и ряд авторов [13, 15], мы не зарегистрировали увеличение концентрации СРБ через 6 месяцев от момента начала терапии антибиотиками во всех группах пациентов с ПС с поражением нервной системы. Другие исследователи обнаружили значительное повышение СРБ у пациентов с ПС по сравнению с реконвалесцентами [23].

Есть три общепризнанных исхода заболевания после антибиотикотерапии при ЛБ: разрешение / излечение, устойчивое к антибиотикам заболевание (в том числе прогрессирующие формы) и синдром болезни Лайма после лечения [10, 11]. В ряде работ установлена взаимосвязь развития синдрома болезни Лайма после лечения с высокими значениями либо CCL19 [13], либо ИЛ-23 [14], а в других подобные закономерности не подтверждены [15, 20]. При высоких значениях CCL19 и ИЛ-23 в сравнении с нормальными нами выявлено достоверное увеличение частоты встречаемости пациентов 1-й группы (с синдромом болезни Лайма после лечения). По некоторым данным, при сохранении через 6 месяцев от момента начала терапии высоких значений CCL19 ОШ для развития синдрома болезни Лайма после лечения составляет 1,84 (95% ДИ: от 1,12 до 3,02, $p < 0,05$) [13]. В нашем исследовании установлена диагностическая и прогностическая значимость обнаружения высоких значений для CCL19 и ИЛ-23 для 1-й группы пациентов.

Полагают, что причиной различий результатов, полученных в отношении развития синдрома болезни Лайма в США (связь с CCL19) и в Европе (ассоциация с ИЛ-23), являются отличия в геновидах *B. burgdorferi* в этих

регионах, с преобладанием в США *B. burgdorferi sensu stricto*, а в Европе — *B. afzelii* и *B. garinii* [13]. Однако это обоснование, на наш взгляд, не является единственным. Так, хотя в Российской Федерации, как и в Европе, основными геновидами *B. burgdorferi* являются *B. afzelii* и *B. garinii* [24], в настоящем исследовании в группе пациентов с синдромом болезни Лайма после лечения выявлено одновременное повышение концентрации CCL19 и ИЛ-23. Выявленные различия могут быть обусловлены и особенностями формирования клинических групп в каждом исследовании.

Известно, что повышение CCL19 и ИЛ-23 наблюдается в острую стадию инфекции Covid-19 и ассоциируется с ее неблагоприятными исходами [25]. В нашем исследовании не было пациентов с острым Covid-19. На основании отсутствия различий между выделенными группами в частоте встречаемости и уровне IgG анти-SARS-CoV-2, мы полагаем, что инфекция вирусом SARS-CoV-2 не оказала влияния на выявленные нами закономерности при ЛБ. Кроме того, высокие значения CCL19 и ИЛ-23 не ассоциировались с повышенными уровнем, наличием IgG анти-SARS-CoV-2 и не коррелировали с их концентрацией в сыворотке крови.

Важной составляющей диагностики ЛБ является определение специфических IgM и IgG анти-*B.burgdorferi*, в связи с чем нами был проведен анализ между ними и исследуемыми биомаркерами. У пациентов с нормальными значениями CCL19 и ИЛ-23 достоверно чаще, чем с высокими, выявлялись IgG анти-*B.burgdorferi*. Не обнаружено корреляции между концентрацией CCL19, ИЛ-23 и значениями IgM анти-*B.burgdorferi* и IgG анти-*B.burgdorferi*. Другие авторы также не выявили связь между концентрацией ИЛ-23 в сыворотке крови и значениями анти-*B.burgdorferi* [14].

Во всех клинических группах пациентов с поражением нервной системы были обнаружены IgM или IgG анти-*B.burgdorferi*. Мы полагаем, что частое обнаружение специфических IgM и IgG анти-*B.burgdorferi* в 1-й группе пациентов не связано с наличием активной инфекции *B.burgdorferi*. По данным литературы, при ЛБ специфические IgM и IgG анти-*B.burgdorferi*, выявляемые с помощью двухтестового подхода (ИФМ и вестерн-блоттинг), могут встречаться в течение длительного времени (от 10 до 20 лет) после лечения [26]. Однако их наличие не связано с персистенцией инфекции. Установлено, что высокая концентрация IgM и IgG анти-*B.burgdorferi* ассоциируется с быстрым разрешением симптомов ЛБ, в сравнении с пациентами с их низким уровнем [27]. Эти данные частично объясняют высокую частоту встречаемости и уровень

специфических анти-*B. burgdorferi*, а также IgG анти-SARS-CoV-2 у пациентов в 4-й группе (с полным выздоровлением).

Рассматривая возможные механизмы развития ПС, необходимо отметить, что при инфекции *B. burgdorferi*, в ответ на заражение развивается комплекс взаимосвязанных между собой реакций, включающих эффекторные компоненты врожденной и приобретенной иммунной защиты, направленные на ограничение нагрузки патогенов, минимизацию повреждения тканей и предотвращение последующего повторного заражения [28]. Продукция провоспалительных хемокинов и цитокинов дендритными клетками (ДК) и макрофагами является неотъемлемой частью этого процесса, направленного на усиление врожденного и активацию приобретенного иммунного ответа [28]. CCL19 и ИЛ-23 при этом занимают центральное место в данных процессах. CCL19 участвует в активации Т-клеток, инициации приобретенного иммунитета и поддержании иммунной толерантности. Он вырабатывается ДК, макрофагами, нейтрофилами и др. [29]. CCL19 вместе со своим рецептором CCR7 (C-C chemokine receptor type 7) играет важную роль в привлечении наивных и Т-клеток памяти (CCR7⁺-Т-клетки), а также ДК и В-лимфоцитов в лимфоидные органы и ЦНС [30, 31]. CCL19 постоянно экспрессируется в ЦНС для быстрого иммунного надзора [32]. У лабораторных животных после инфицирования *B. burgdorferi* наблюдается увеличение экспрессии мРНК CCL19 в лимфатических узлах [33], сопровождающееся повышением продукции CCL19 активированными ДК.

Основными источниками ИЛ-23, как и CCL-19, являются активированные ДК и макрофаги [29, 34]. ИЛ-23 также вырабатывается В-клетками и врожденными лимфоидными клетками 3-го типа. Очевидно, что CCL19 и ИЛ-23 играя важную роль в воспалительных процессах, в ряде случаев действуют синергично, усиливая продукцию и эффекты друг друга. В экспериментальных исследованиях обнаружено, что CCL19 связываясь с CCR7 на ДК селезенки и костного мозга мышей через сигнальные пути PI3K и NF-κB индуцирует транскрипцию мРНК ИЛ-23p19 и продукцию ими ИЛ-23 [35]. Это, возможно, объясняет полученные нами данные о совместном повышении в сыворотке крови CCL19 и ИЛ-23 у пациентов 1-й группы (с синдромом болезни Лайма после лечения).

Активация ДК при ЛБ имеет ряд существенных особенностей. При изучении бактериального иммунопептидома в процессе культивирования живых *B. burgdorferi* с ДК, полученными из моноцитов здоровых доноров, обнаружена уникальная сигнатура экспрессии генов, отличная от стимуляции агонистом toll-подобных рецепторов 2 — липотейхоевой кислотой [36]. Зарегистрирована повышенная экспрессия моноцитарными ДК ингибиторов отрицательных контрольных точек PD-L1, TIM3, LAG3 и индоламин-2,3-диоксигеназы. Полагают, что патогены используют путь PD-L1, чтобы уклониться от ответа хозяина [37]. На экспериментальной модели ЛБ показано, что путь PD-1/PD-L1 индуцируется во время инфекции *B. burgdorferi* [38]. Обнаружена индукция на моноцитарных ДК экспрессии гена LAG-3, который в основном ограничен регуляторными Т-клетками (T-reg) [39]. Последние влияют на баланс про- и противовоспалительных процессов, вызванных инфекцией, включая ЛБ [40].

B. burgdorferi стимулирует продукцию моноцитарными ДК индоламин-2,3-диоксигеназы (фермента, разрушающего триптофан, и подавляющего образование эффекторных Т-клеток) и стимулируют генерацию CD4-Трег-клеток [41]. Таким образом, ДК, подвергшиеся воздействию

B. burgdorferi, изменяют Т-клеточный ответ организма человека [36]. Полагают, что нарушение регуляции и аберрантный ответ Т-клеток является особенностью ЛБ и вносит определенный вклад в различные клинические исходы заболевания [11]. У пациентов с повышенным уровнем ИЛ-23 нарушенный иммунный ответ, связанный с Th17, способствует возникновению симптомов постлаймского синдрома [14].

В последние годы появились новые данные, раскрывающие дополнительные механизмы участия CCL19 и ИЛ-23 в формировании клинических проявлений синдрома болезни Лайма после лечения, которые представляют потенциальный интерес в плане понимания его патогенеза и стратегий терапии. Они включают участие клеток хориоидального сплетения ЦНС, менингеальную лимфатическую систему, дисрегуляцию миграции иммунных клеток в ЦНС и обратно, дисфункцию глимфатической системы и нарушение экспрессии транскрипционных факторов, обеспечивающих гомеостаз эндотелия сосудов и функционирование Т-лимфоцитов, в частности Krüppel-подобного фактора 2 (KLF2).

B. burgdorferi может оказывать влияние на эпителиальные клетки сосудистого сплетения ЦНС человека, индуцируя изменения, способствующие хемотаксису активированных Т-лимфоцитов в паренхиме ЦНС [42]. При инкубации *B. burgdorferi* с эпителиальными клетками сосудистого сплетения человека наблюдалось значительное увеличение экспрессии иммунных и воспалительных генов хемокинов, включая CCR7, ИНФ I и II типов. Выявлено снижение экспрессии ключевых генов, кодирующих выработку белков плотных (cln14) и адгезионных (cdh2) соединений, а также β-субъединицы натрий-калиевого транспортера (atp1b1) [43]. Менингеальная лимфатическая система играет важную роль в локальном иммунном гомеостазе мозговых оболочек, участвует в обеспечении миграции иммунных клеток, в частности, ДК и Т-клеток из ЦНС к границам мозговых оболочек и, в дальнейшем, по афферентным лимфатическим сосудам в шейные лимфатические узлы [44]. Нарушение миграции Т-клеток из ЦНС может сопровождаться патологическими изменениями в ней [44].

Возможно, что дисфункция глимфатической системы после острого периода ЛБ может являться дополнительным фактором патогенеза ПС с поражением нервной системы. Ее ключевым элементом является аквапорин-4 [45]. Он участвует в воспалении головного мозга, клиренсе ликвора, синаптической пластичности и формировании памяти, регуляции объема внеклеточного пространства и гомеостазе калия [46, 47]. Аквапорин 4 участвует в миграции иммунных клеток в ЦНС, в формировании эффективного приобретенного Т- и В-клеточного иммунного ответа и необходим для полной активации Т-клеток [48, 49].

У мышей с дефицитом аквапорина-4 наблюдаются когнитивный дефицит в тесте на запоминание местоположения объекта [50] и нарушение пространственной памяти в водном лабиринте Морриса [51] — важные неврологические проявления синдрома болезни Лайма после лечения. Дисрегуляция глимфатической системы считается основным фактором развития миалгического энцефаломиелита/синдрома хронической усталости, клинические проявления которого, особенно «мозговой туман», характерны и для ПС с поражением нервной системы [52].

Известно, что экспрессия CCR7-рецептора для CCL-19 регулируется цинк-пальцевым транскрипционным фактором KLF2, который обеспечивает гомеостаз эндотелия сосудов и

функционирование Т-лимфоцитов [53]. Гены, регулируемые KLF2, важны для выживания, миграции и функционирования Т-клеток. Снижение уровня KLF2 связано с развитием эндотелиальной дисфункции, цитокинового «шторма» при ряде инфекций [53]. KLF2 препятствует развитию эндотелиальной дисфункции, вызванной вирусом SARS-Cov-2 [54]. Ряд лекарственных препаратов, в частности аторвастатин, ресвератрол, метформин, лираглутид, трихостатин D могут повышать уровень мРНК KLF2 в эндотелиальных клетках и являются его активатором [55]. Их эффекты также были связаны с ингибированием сигнального пути NOD-подобного рецепторного белка 3 (NLRP3)/каспазы-1/ИЛ-1 β , вовлеченного в патогенез ряда неврологических заболеваний.

KLF2 подавляет воспаление, вызванное NF- κ B [56], обеспечивает экспрессию рецептора L-селектина (CD62L), определяет направление дифференцировки Т-лимфоцитов в эффекторные CXCR1⁺ или истощенные CD101⁺-Т-клетки [57]. Ранее возможную роль феномена истощения Т-клеток и их aberrантного состояния в патогенезе ПС рассматривали ряд авторов [11, 13, 20]. Возможно, что у части пациентов ЛБ после терапии антибиотиками нарушение трансмиграции Т-лимфоцитов и ДК в ЦНС и из нее обусловлено изменением поляризации аквапорина-4 в астроцитах, подавлением экспрессии и активности KLF2 на клетках эндотелия и эпителиальных клетках сосудистого

сплетения ЦНС, может лежать в основе развития симптомов синдрома болезни Лайма после лечения.

В целом при ЛБ крайне важно выявление биомаркеров, имеющих приемлемую диагностическую специфичность и чувствительность, для прогнозирования развития постлаймского синдрома [16], исследование CCL19 может представлять потенциальный интерес для скрининга таких пациентов [17]. По нашим данным, наряду с CCL19, определение ИЛ-23 имеет не меньшую диагностическую и прогностическую значимость. Мы полагаем, что для внедрения данных биомаркеров в клиническую практику, корректного сравнения результатов, полученных при применении различных технологий, необходимы дальнейшие исследования для четкого определения референсных интервалов и оптимальных пороговых значений этих показателей.

ВЫВОДЫ

Наше исследование подтвердило участие в патогенезе ПС у пациентов с поражением нервной системы хемокина CCL19 и цитокина ИЛ-23. Полученные результаты и данные литературы свидетельствуют, что у части пациентов с ЛБ в основе клинических проявлений ПС лежат абберантные изменения функционирования врожденного и приобретенного иммунного ответа организма на инфекцию *B. burgdorferi*.

Литература

1. Клинические рекомендации. Болезнь Лайма у взрослых. 2025. Доступно по ссылке: <http://medelement.com/disease/болезнь-лайма-у-взрослых-кр-рф-2025/19081> (дата обращения: 10.03.2026).
2. Рудакова С. А., Теслова О. Е., Муталинова Н. Е., Рудаков Н. В., Пеньевская Н. А., Кузьменко Ю. Ф. и др. Эпидемиологическая ситуация по иксодовым клещевым боррелиозам в Российской Федерации в 2010–2024 гг. и прогноз на 2025 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2025; 2: 39–46. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-2-39-46.
3. Steere AC, Strle F, Wormser GP, Hu LT, Branda JA, Hovius JW, et al. Lyme borreliosis. Nat Rev Dis Primers. 2016; 2: 16090. DOI: 10.1038/nrdp.2016.90. Erratum in: Nat Rev Dis Primers. 2017; 3: 17062. DOI: 10.1038/nrdp.2017.62.
4. Radolf JD, Strle K, Lemieux JE, Strle F. Lyme Disease in Humans. Curr Issues Mol Biol. 2021; 42: 333–84. DOI: 10.21775/cimb.042.333.
5. Schwartz AM, Kugeler KJ, Nelson CA, Marx GE, Hinckley AF. Use of commercial claims data for evaluating trends in Lyme disease diagnoses, United States, 2010–2018. Emerg Infect Dis. 2021; 27 (2): 499–507. DOI: 10.3201/eid2702.202728.
6. Steinbrink A, Brugger K, Margos G, Kraiczy P, Klimpel S. The evolving story of *Borrelia burgdorferi sensu lato* transmission in Europe. Parasitol. Res. 2022; 121 (3): 781–803. DOI: 10.1007/s00436-022-07445-3.
7. Wormser GP, Dattwyler RJ, Shapiro ED, Halperin JJ, Steere AC, Klemperer MS, et al. The clinical assessment, treatment, and prevention of Lyme disease, human granulocytic anaplasmosis, and babesiosis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis. 2006; 43: 1089–134. DOI: 10.1086/508667.
8. Weitzner E, McKenna D, Nowakowski J, Scavarda C, Dombush R, Bittker S, et al. Long-term assessment of post-treatment symptoms in patients with culture-confirmed early Lyme disease. Clin Infect Dis. 2015; 61: 1800–6. DOI: 10.1093/cid/civ735.
9. Shor S, Green C, Szantyr B, Phillips S, Liegner K, Burrascano JJ Jr, et al. Chronic Lyme disease: an evidence-based definition by the ILADS working group. Antibiotics (Basel). 2019; 8: 269. DOI: 10.3390/antibiotics8040269.
10. Zafar K, Azuama OC, Parveen N. Current and emerging approaches for eliminating *Borrelia burgdorferi* and alleviating persistent Lyme disease symptoms. Front Microbiol. 2024; 15: 1459202. DOI: 10.3389/fmicb.2024.1459202.
11. Steere AC. Posttreatment Lyme disease syndromes: distinct pathogenesis caused by maladaptive host responses. J Clin Invest. 2020; 130 (5): 2148–51. DOI: 10.1172/JCI138062.
12. Soloski MJ, Crowder LA, Lahey LJ, Wagner CA, Robinson WH, Aucott JN. Serum inflammatory mediators as markers of human Lyme disease activity. PLoS One. 2014; 9 (4): e93243. DOI: 10.1371/journal.pone.0093243.
13. Aucott JN, Soloski MJ, Rebman AW, Crowder LA, Lahey LJ, Wagner CA, et al. CCL19 as a chemokine risk factor for posttreatment Lyme disease syndrome: a prospective clinical cohort study. Clin Vaccine Immunol. 2016; 23 (9): 757–66. DOI: 10.1128/CVI.00071-16.
14. Strle K, Stupica D, Drouin EE, Steere AC, Strle F. Elevated levels of IL-23 in a subset of patients with post-lyme disease symptoms following erythema migrans. Clin Infect Dis. 2014; 58 (3): 372–80. DOI: 10.1093/cid/cit735.
15. Hernández SA, Ogrinc K, Korva M, Kastrin A, Bogovič P, Rojko T, et al. Associated of persistent symptoms after Lyme Neuroborreliosis and increased levels of interferon- α in blood. Emerg Infect Dis. 2023; 29 (6): 1091–101. DOI: 10.3201/eid2906.221685.
16. Adkison H, Embers ME. Lyme disease and the pursuit of a clinical cure. Front Med (Lausanne). 2023; 10: 1183344. DOI: 10.3389/fmed.2023.1183344.
17. Raffetin A, Saunier A, Bouiller K, Caraux-Paz P, Eldin C, Gallien S, et al. Unconventional diagnostic tests for Lyme borreliosis: a systematic review. Clin Microbiol Infect. 2020; 26 (1): 51–59. DOI: 10.1016/j.cmi.2019.06.033.
18. Баранова Н. С., Остапенко Я. С., Овсянникова Л. А., Спирин Н. Н., Баранов А. А., Быканова М. А. Клинические особенности поражения нервной системы при постлаймском синдроме. Часть 1. ПМЖ. 2026; 4: 7–12. DOI: 10.32364/2225-2282-2026-4-2.
19. Rupperecht TA, Plate A, Adam M, Wick M, Kastenbauer S, Schmidt C, et al. The chemokine CXCL13 is a key regulator of B cell recruitment to the cerebrospinal fluid in acute Lyme

- neuroborreliosis. *J Neuroinflammation*. 2009; 6: 42. DOI: 10.1186/1742-2094-6-42.
20. Girgis AA, Cimbri R, Yang T, Rebman AW, Sewell T, Villegas de Flores D, et al. Aberrant T-cell phenotypes in a cohort of patients with post-treatment Lyme disease. *Front Immunol*. 2025; 16: 1607619. DOI: 10.3389/fimmu.2025.1607619.
 21. Eckman EA, Pacheco-Quinto J, Herdt AR, Halperin JJ. Neuroimmunomodulators in neuroborreliosis and Lyme encephalopathy. *Clin Infect Dis*. 2018; 67 (1): 80–88. DOI: 10.1093/cid/ciy019.
 22. Баранова Н. С., Овсянникова Л. А., Остапенко Я. С., Спиринов Н. Н., Баранов А. А., Грысь М. С. и др. Уровень цитокинов у пациентов с рассеянным склерозом и хроническим нейроборрелиозом. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2024; 16: 57–64. DOI: 10.14412/2074-2711-2024-2S-57-64.
 23. Uhde M, Ajamian M, Li X, Wormser GP, Marques A, Alaedini A. Expression of C-reactive protein and serum amyloid A in early to late manifestations of Lyme disease. *Clin Infect Dis*. 2016; 63: 1399–404. DOI: 10.1093/cid/ciw599.
 24. Рудакова С. А., Рудаков Н. В., Штрек С. В., Теслова О. Е., Канешова Н. Е. Геновидовая характеристика клещевых боррелиозов в России. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2021; 6 (3): 94–99. DOI: 10.23946/2500-0764-2021-6-3-94-99.
 25. Tveita A, Murphy SL, Holter JC, Kildal AB, Michelsen AE, Lerum TV, et al. High circulating levels of the homeostatic chemokines CCL19 and CCL21 predict mortality and disease severity in COVID-19. *J Infect Dis*. 2022; 226 (12): 2150–60. DOI: 10.1093/infdis/jiac313.
 26. Kalish RA, McHugh G, Granquist J, Shea B, Ruthazer R, Steere AC. Persistence of immunoglobulin M or immunoglobulin G antibody responses to *Borrelia burgdorferi* 10–20 years after active Lyme disease. *Clin Infect Dis*. 2001; 33 (6): 780–5. DOI: 10.1086/322669.
 27. Blum LK, Adamska J Z, Martin DS, Rebman AW, Elliott SE, Cao RRL, et al. Robust B cell responses predict rapid resolution of Lyme disease. *Front Immunol*. 2018; 9: 1634. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01634.
 28. Bockenstedt LK, Wooten RM, Baumgarth N. Immune response to *Borrelia*: lessons from Lyme Disease spirochetes. *Curr Issues Mol Biol*. 2021; 42: 145–190. DOI: 10.21775/cimb.042.145.
 29. Nakano K, Whitehead GS, Lyons-Cohen MR, Grimm SA, Wilkinson CL, Izumi G, et al. Chemokine CCL19 promotes type 2 T-cell differentiation and allergic airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2024; 153 (2): 487–502.e9. DOI: 10.1016/j.jaci.2023.10.024.
 30. Yan Y, Chen R, Wang X, Hu K, Huang L, Lu M, et al. CCL19 and CCR7 expression, signaling pathways, and adjuvant functions in viral infection and prevention. *Front Cell Dev Biol*. 2019; 7: 212. DOI: 10.3389/fcell.2019.00212.
 31. Bielecki B, Jatczak-Pawlik I, Wolinski P, Bednarek A, Glabinski A. Central nervous system and peripheral expression of CCL19, CCL21 and their receptor CCR7 in experimental model of multiple sclerosis. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2015; 63 (5): 367–76. DOI: 10.1007/s00005-015-0339-9.
 32. Krumbholz M, Theil D, Steinmeyer F, Cepok S, Hemmer B, Hofbauer M, et al. CCL19 is constitutively expressed in the CNS, up-regulated in neuroinflammation, active and also inactive multiple sclerosis lesions. *J Neuroimmunol*. 2007; 190 (1–2): 72–9. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2007.07.024.
 33. Hastey CJ, Ochoa J, Olsen KJ, Barthold SW, Baumgarth N. MyD88- and TRIF-independent induction of type I interferon drives naive B cell accumulation but not loss of lymph node architecture in Lyme disease. *Infect Immun*. 2014; 82: 1548–8. DOI: 10.1128/IAI.00969-13.
 34. Li Y, Yu X, Ma Y, Hua S. IL-23 and dendritic cells: What are the roles of their mutual attachment in immune response and immunotherapy? *Cytokine*. 2019; 120: 78–84. DOI: 10.1016/j.cyto.2019.02.018.
 35. Kuwabara T, Tanaka Y, Ishikawa F, Kondo M, Sekiya H, Kakiuchi T. CCR7 ligands up-regulate IL-23 through PI3-kinase and NF- κ B pathway in dendritic cells. *J Leukoc Biol*. 2012; 92 (2): 309–18. DOI: 10.1189/jlb.0811415.
 36. Gutierrez-Hoffmann M, Fan J, O'Meally RN, Cole RN, Florea L, Antonescu C, et al. The Interaction of *Borrelia burgdorferi* with Human Dendritic Cells: Functional Implications. *J Immunol*. 2023; 211 (4): 612–25. DOI: 10.4049/jimmunol.2300235.
 37. Sharpe AH, Wherry EJ, Ahmed R, Freeman GJ. The function of programmed cell death 1 and its ligands in regulating autoimmunity and infection. *Nat Immunol*. 2007; 8 (3): 239–45. DOI: 10.1038/ni1443.
 38. Helble JD, McCarthy JE, Sawden M, Starnbach MN, Hu LT. The PD-1/PD-L1 pathway is induced during *Borrelia burgdorferi* infection and inhibits T cell joint infiltration without compromising bacterial clearance. *PLoS Pathog*. 2022; 18 (10): e1010903. DOI: 10.1371/journal.ppat.1010903.
 39. Anderson AC, Joller N, Kuchroo VK. Lag-3, Tim-3, and TIGIT: co-inhibitory receptors with specialized functions in immune regulation. *Immunity*. 2016; 44 (5): 989–1004. DOI: 10.1016/j.immuni.2016.05.001.
 40. Lochhead RB, Strle K, Arvikar SL, Weis JJ, Steere AC. Lyme arthritis: linking infection, inflammation and autoimmunity. *Nat Rev Rheumatol*. 2021; 17 (8): 449–61. DOI: 10.1038/s41584-021-00648-5.
 41. Harden JL, Egilmez NK. Indoleamine 2,3-dioxygenase and dendritic cell tolerogenicity. *Immunol Invest*. 2012; 41 (6–7): 738–64. DOI: 10.3109/08820139.2012.676122.
 42. Thompson D, Sorenson J, Greenmyer J, Brissette CA, Watt JA. The Lyme disease bacterium, *Borrelia burgdorferi*, stimulates an inflammatory response in human choroid plexus epithelial cells. *PLoS One*. 2020; 15 (7): e0234993. DOI: 10.1371/journal.pone.0234993.
 43. Barwe SP, Skay A, McSpadden R, Huynh TP, Langhans SA, Inge LJ, et al. Na,K-ATPase β -subunit cis homo-oligomerization is necessary for epithelial lumen formation in mammalian cells. *J Cell Sci*. 2012; 125 (Pt 23): 5711–20. DOI: 10.1242/jcs.108795.
 44. Laaker C, Baenen C, Kovács KG, Sandor M, Fabry Z. Immune cells as messengers from the CNS to the periphery: the role of the meningeal lymphatic system in immune cell migration from the CNS. *Front Immunol*. 2023; 14: 1233908. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1233908.
 45. Iliff JJ, Wang M, Liao Y, Plogg BA, Peng W, Gundersen GA, et al. A paravascular pathway facilitates CSF flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid β . *Sci Transl Med*. 2012; 4 (147): 147ra111. DOI: 10.1126/scitranslmed.3003748.
 46. Cai Y, Zhang Y, Leng S, Ma Y, Jiang Q, Wen Q, et al. The relationship between inflammation, impaired glymphatic system, and neurodegenerative disorders: A vicious cycle. *Neurobiol Dis*. 2024; 192: 106426. DOI: 10.1016/j.nbd.2024.106426.
 47. Mader S, Brimberg L. Aquaporin-4 Water Channel in the Brain and Its Implication for Health and Disease. *Cells*. 2019; 8 (2): 90. DOI: 10.3390/cells8020090.
 48. Morley SC. T cells go with the flow: aquaporin 4 is required for full T-cell activation. *J Leukoc Biol*. 2023; 113 (6): 541–3. DOI: 10.1093/jleuko/qiad041.
 49. Nicosia M, Lee J, Beavers A, Kish D, Farr GW, McGuirk PR, et al. Water channel aquaporin 4 is required for T cell receptor mediated lymphocyte activation. *J Leukoc Biol*. 2023; 113 (6): 544–54. DOI: 10.1093/jleuko/qiad010.
 50. Skucas VA, Mathews IB, Yang J, Cheng Q, Treister A, Duffy AM, et al. Impairment of select forms of spatial memory and neurotrophin-dependent synaptic plasticity by deletion of glial aquaporin-4. *J Neurosci*. 2011; 31: 6392–7. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.6249-10.2011.
 51. Zhang J, Li Y, Chen ZG, Dang H, Ding JH, Fan Y, et al. Glia protein aquaporin-4 regulates aversive motivation of spatial memory in Morris water maze. *CNS Neurosci Ther*. 2013; 19: 937–44. DOI: 10.1111/cns.12191.
 52. Nemat-Gorgani M, Jensen MA, Davis RW. Glymphatic system dysregulation as a key contributor to myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome. *Int J Mol Sci*. 2025; 26 (23): 11524. DOI: 10.3390/ijms262311524.
 53. Турлаев К. Т. Транскрипционный фактор KLF2 и его роль в регуляции воспалительных процессов. *Обзор. Биохимия*, 2020; 85 (1): 64–79 DOI: 10.31857/S0320972520010054.
 54. Xu S, Liu Y, Ding Y, Luo S, Zheng X, Wu X, et al. The zinc finger transcription factor, KLF2, protects against COVID-19 associated endothelial dysfunction. *Signal Transduct Target Ther*. 2021; 6 (1): 266. DOI: 10.1038/s41392-021-00690-5.
 55. Lei L, Chen M, Wang C, Jiang X, Li Y, Wang W, et al. Trichostatin D as a Novel KLF2 Activator Attenuates TNF α -Induced Endothelial Inflammation. *Int J Mol Sci*. 2022; 23 (21): 13477. DOI: 10.3390/ijms232113477.
 56. Jha P, Das H. KLF2 in Regulation of NF- κ B-Mediated Immune Cell

Function and Inflammation. *Int J Mol Sci.* 2017; 18 (11): 2383. DOI: 10.3390/ijms18112383.

57. Tsui C, Heyden L, Wen L, Gago da Graça C, Potemkin N, Frolov A, et al.

Lymph nodes fuel KLF2-dependent effector CD8+ T cell differentiation during chronic infection and checkpoint blockade. *Nat Immunol.* 2025; 26 (10): 1752–65. DOI: 10.1038/s41590-025-02276-7.

References

- Klinicheskie rekomendacii. Bolezn' Lajma u vzroslyh. 2025. Dostupno po sssylke: <http://medelement.com/disease/bolezni-lajma-u-vzroslyh-kr-rf-2025/19081> (data obrashcheniya: 10.03.2026). Russian.
- Rudakova SA, Teslova OE, Mutalino NE, Rudakov NV, Penevskaya NA, Kuzmenko YuF, et al. Epidemiologicheskaya situatsiya po ikhsodovym kleshchevym borreliozam v Rossijskoj Federacii v 2010–2024 gg. i prognoz na 2025 g. *Problemy osobno opasnyh infekcij.* 2025; 2: 39–46. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-2-39-46. Russian.
- Steere AC, Strle F, Wormser GP, Hu LT, Branda JA, Hovius JW, et al. Lyme borreliosis. *Nat Rev Dis Primers.* 2016; 2: 16090. DOI: 10.1038/nrdp.2016.90. Erratum in: *Nat Rev Dis Primers.* 2017; 3: 17062. DOI: 10.1038/nrdp.2017.62.
- Radolf JD, Strle K, Lemieux JE, Strle F. Lyme Disease in Humans. *Curr Issues Mol Biol.* 2021; 42: 333–84. DOI: 10.21775/cimb.042.333.
- Schwartz AM, Kugeler KJ, Nelson CA, Marx GE, Hinckley AF. Use of commercial claims data for evaluating trends in Lyme disease diagnoses, United States, 2010–2018. *Emerg Infect Dis.* 2021; 27 (2): 499–507. DOI: 10.3201/eid2702.202728.
- Steinbrink A, Brugger K, Margos G, Kraiczky P, Klimpel S. The evolving story of *Borrelia burgdorferi* sensu lato transmission in Europe. *Parasitol. Res.* 2022; 121 (3): 781–803. DOI: 10.1007/s00436-022-07445-3.
- Wormser GP, Dattwyler RJ, Shapiro ED, Halperin JJ, Steere AC, Klempner MS, et al. The clinical assessment, treatment, and prevention of Lyme disease, human granulocytic anaplasmosis, and babesiosis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2006; 43: 1089–134. DOI: 10.1086/508667.
- Weitzner E, McKenna D, Nowakowski J, Scavarda C, Dornbush R, Bittker S, et al. Long-term assessment of post-treatment symptoms in patients with culture-confirmed early Lyme disease. *Clin Infect Dis.* 2015; 61: 1800–6. DOI: 10.1093/cid/civ735.
- Shor S, Green C, Szantyr B, Phillips S, Liegner K, Burrascano JJ Jr, et al. Chronic Lyme disease: an evidence-based definition by the ILADS working group. *Antibiotics (Basel).* 2019; 8: 269. DOI: 10.3390/antibiotics8040269.
- Zafar K, Azuama OC, Parveen N. Current and emerging approaches for eliminating *Borrelia burgdorferi* and alleviating persistent Lyme disease symptoms. *Front Microbiol.* 2024; 15: 1459202. DOI: 10.3389/fmicb.2024.1459202.
- Steere AC. Posttreatment Lyme disease syndromes: distinct pathogenesis caused by maladaptive host responses. *J Clin Invest.* 2020; 130 (5): 2148–51. DOI: 10.1172/JCI138062.
- Soloski MJ, Crowder LA, Lahey LJ, Wagner CA, Robinson WH, Aucott JN. Serum inflammatory mediators as markers of human Lyme disease activity. *PLoS One.* 2014; 9 (4): e93243. DOI: 10.1371/journal.pone.0093243.
- Aucott JN, Soloski MJ, Rebman AW, Crowder LA, Lahey LJ, Wagner CA, et al. CCL19 as a chemokine risk factor for posttreatment Lyme disease syndrome: a prospective clinical cohort study. *Clin Vaccine Immunol.* 2016; 23 (9): 757–66. DOI: 10.1128/CVI.00071-16.
- Strle K, Stupica D, Drouin EE, Steere AC, Strle F. Elevated levels of IL-23 in a subset of patients with post-lyme disease symptoms following erythema migrans. *Clin Infect Dis.* 2014; 58 (3): 372–80. DOI: 10.1093/cid/cit735.
- Hernández SA, Ogrinc K, Korva M, Kastrin A, Bogovič P, Rojko T, et al. Association of persistent symptoms after Lyme Neuroborreliosis and increased levels of interferon- α in blood. *Emerg Infect Dis.* 2023; 29 (6): 1091–101. DOI: 10.3201/eid2906.221685.
- Adkison H, Embers ME. Lyme disease and the pursuit of a clinical cure. *Front Med (Lausanne).* 2023; 10: 1183344. DOI: 10.3389/fmed.2023.1183344.
- Raffetin A, Saunier A, Bouiller K, Caraux-Paz P, Eldin C, Gallien S, et al. Unconventional diagnostic tests for Lyme borreliosis: a systematic review. *Clin Microbiol Infect.* 2020; 26 (1): 51–59. DOI: 10.1016/j.cmi.2019.06.033.
- Baranova NS, Ostapenko YaS, Ovsyannikova LA, Spirin NN, Baranov AA, Bykanova MA. Clinical characteristics of neurological involvement in post-treatment Lyme disease syndrome: part 1. *RMJ.* 2026; 4: 7–12. DOI: 10.32364/2225-2282-2026-4-2. Russian.
- Rupprecht TA, Plate A, Adam M, Wick M, Kastenbauer S, Schmidt C, et al. The chemokine CXCL13 is a key regulator of B cell recruitment to the cerebrospinal fluid in acute Lyme neuroborreliosis. *J Neuroinflammation.* 2009; 6: 42. DOI: 10.1186/1742-2094-6-42.
- Girgis AA, Cimbro R, Yang T, Rebman AW, Sewell T, Villegas de Flores D, et al. Aberrant T-cell phenotypes in a cohort of patients with post-treatment Lyme disease. *Front Immunol.* 2025; 16: 1607619. DOI: 10.3389/fimmu.2025.1607619.
- Eckman EA, Pacheco-Quinto J, Herdt AR, Halperin JJ. Neuroimmunomodulators in neuroborreliosis and Lyme encephalopathy. *Clin Infect Dis.* 2018; 67 (1): 80–88. DOI: 10.1093/cid/ciy019.
- Baranova NS, Ovsyannikova LA, Ostapenko YaS, Spirin NN, Baranov AA, Gris MS, et al. Cytokine levels in patients with multiple sclerosis and chronic neuroborreliosis. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics.* 2024; 16 (Suppl.2): 57–64. DOI: 10.14412/2074-2711-2024-2S-57-64. Russian.
- Uhde M, Ajamian M, Li X, Wormser GP, Marques A, Alaedini A. Expression of C-reactive protein and serum amyloid A in early to late manifestations of Lyme disease. *Clin Infect Dis.* 2016; 63: 1399–404. DOI: 10.1093/cid/ciw599.
- Rudakova SA, Rudakov NV, Shtrek SV, Teslova OE, Kaneshova NE. Genovidovaya harakteristika kleshchevyyh borreliozov v Rossii. *Fundamental'naya i klinicheskaya medicina.* 2021; 6 (3): 94–99. DOI: 10.23946/2500-0764-2021-6-3-94-99. Russian.
- Tveita A, Murphy SL, Holter JC, Kildal AB, Michelsen AE, Lerum TV, et al. High circulating levels of the homeostatic chemokines CCL19 and CCL21 predict mortality and disease severity in COVID-19. *J Infect Dis.* 2022; 226 (12): 2150–60. DOI: 10.1093/infdis/jiac313.
- Kalish RA, McHugh G, Granquist J, Shea B, Ruthazer R, Steere AC. Persistence of immunoglobulin M or immunoglobulin G antibody responses to *Borrelia burgdorferi* 10–20 years after active Lyme disease. *Clin Infect Dis.* 2001; 33 (6): 780–5. DOI: 10.1086/322669.
- Blum LK, Adamska J Z, Martin DS, Rebman AW, Elliott SE, Cao RRL, et al. Robust B cell responses predict rapid resolution of Lyme disease. *Front Immunol.* 2018; 9: 1634. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01634.
- Bockenstedt LK, Wooten RM, Baumgarth N. Immune response to *Borrelia*: lessons from Lyme Disease spirochetes. *Curr Issues Mol Biol.* 2021; 42: 145–190. DOI: 10.21775/cimb.042.145.
- Nakano K, Whitehead GS, Lyons-Cohen MR, Grimm SA, Wilkinson CL, Izumi G, et al. Chemokine CCL19 promotes type 2 T-cell differentiation and allergic airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2024; 153 (2): 487–502.e9. DOI: 10.1016/j.jaci.2023.10.024.
- Yan Y, Chen R, Wang X, Hu K, Huang L, Lu M, et al. CCL19 and CCR7 expression, signaling pathways, and adjuvant functions in viral infection and prevention. *Front Cell Dev Biol.* 2019; 7: 212. DOI: 10.3389/fcell.2019.00212.
- Bielecki B, Jatczak-Pawlik I, Wolinski P, Bednarek A, Glabinski A. Central nervous system and peripheral expression of CCL19, CCL21 and their receptor CCR7 in experimental model of multiple sclerosis. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2015; 63 (5): 367–76. DOI: 10.1007/s00005-015-0339-9.
- Krumbholz M, Theil D, Steinmeyer F, Cepok S, Hemmer B, Hofbauer M, et al. CCL19 is constitutively expressed in the CNS, up-regulated in neuroinflammation, active and also inactive multiple sclerosis lesions. *J Neuroimmunol.* 2007; 190 (1–2): 72–

9. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2007.07.024.
33. Hastey CJ, Ochoa J, Olsen KJ, Barthold SW, Baumgarth N. MyD88- and TRIF-independent induction of type I interferon drives naive B cell accumulation but not loss of lymph node architecture in Lyme disease. *Infect Immun*. 2014; 82: 1548–8. DOI: 10.1128/IAI.00969-13.
34. Li Y, Yu X, Ma Y, Hua S. IL-23 and dendritic cells: What are the roles of their mutual attachment in immune response and immunotherapy? *Cytokine*. 2019; 120: 78–84. DOI: 10.1016/j.cyto.2019.02.018.
35. Kuwabara T, Tanaka Y, Ishikawa F, Kondo M, Sekiya H, Kakiuchi T. CCR7 ligands up-regulate IL-23 through PI3-kinase and NF- κ B pathway in dendritic cells. *J Leukoc Biol*. 2012; 92 (2): 309–18. DOI: 10.1189/jlb.0811415.
36. Gutierrez-Hoffmann M, Fan J, O'Meally RN, Cole RN, Florea L, Antonescu C, et al. The Interaction of *Borrelia burgdorferi* with Human Dendritic Cells: Functional Implications. *J Immunol*. 2023; 211 (4): 612–25. DOI: 10.4049/jimmunol.2300235.
37. Sharpe AH, Wherry EJ, Ahmed R, Freeman GJ. The function of programmed cell death 1 and its ligands in regulating autoimmunity and infection. *Nat Immunol*. 2007; 8 (3): 239–45. DOI: 10.1038/ni1443.
38. Helble JD, McCarthy JE, Sawden M, Starnbach MN, Hu LT. The PD-1/PD-L1 pathway is induced during *Borrelia burgdorferi* infection and inhibits T cell joint infiltration without compromising bacterial clearance. *PLoS Pathog*. 2022; 18 (10): e1010903. DOI: 10.1371/journal.ppat.1010903.
39. Anderson AC, Joller N, Kuchroo VK. Lag-3, Tim-3, and TIGIT: co-inhibitory receptors with specialized functions in immune regulation. *Immunity*. 2016; 44 (5): 989–1004. DOI: 10.1016/j.immuni.2016.05.001.
40. Lochhead RB, Strle K, Arvikar SL, Weis JJ, Steere AC. Lyme arthritis: linking infection, inflammation and autoimmunity. *Nat Rev Rheumatol*. 2021; 17 (8): 449–61. DOI: 10.1038/s41584-021-00648-5.
41. Harden JL, Egilmez NK. Indoleamine 2,3-dioxygenase and dendritic cell tolerogenicity. *Immunol Invest*. 2012; 41 (6–7): 738–64. DOI: 10.3109/08820139.2012.676122.
42. Thompson D, Sorenson J, Greenmyer J, Brissette CA, Watt JA. The Lyme disease bacterium, *Borrelia burgdorferi*, stimulates an inflammatory response in human choroid plexus epithelial cells. *PLoS One*. 2020; 15 (7): e0234993. DOI: 10.1371/journal.pone.0234993.
43. Barwe SP, Skay A, McSpadden R, Huynh TP, Langhans SA, Inge LJ, et al. Na,K-ATPase β -subunit cis homo-oligomerization is necessary for epithelial lumen formation in mammalian cells. *J Cell Sci*. 2012; 125 (Pt 23): 5711–20. DOI: 10.1242/jcs.108795.
44. Laaker C, Baenen C, Kovács KG, Sandor M, Fabry Z. Immune cells as messengers from the CNS to the periphery: the role of the meningeal lymphatic system in immune cell migration from the CNS. *Front Immunol*. 2023; 14: 1233908. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1233908.
45. Iliff JJ, Wang M, Liao Y, Plogg BA, Peng W, Gundersen GA, et al. A paravascular pathway facilitates CSF flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid β . *Sci Transl Med*. 2012; 4 (147): 147ra111. DOI: 10.1126/scitranslmed.3003748.
46. Cai Y, Zhang Y, Leng S, Ma Y, Jiang Q, Wen Q, et al. The relationship between inflammation, impaired glymphatic system, and neurodegenerative disorders: A vicious cycle. *Neurobiol Dis*. 2024; 192: 106426. DOI: 10.1016/j.nbd.2024.106426.
47. Mader S, Brimberg L. Aquaporin-4 Water Channel in the Brain and Its Implication for Health and Disease. *Cells*. 2019; 8 (2): 90. DOI: 10.3390/cells8020090.
48. Morley SC. T cells go with the flow: aquaporin 4 is required for full T-cell activation. *J Leukoc Biol*. 2023; 113 (6): 541–3. DOI: 10.1093/jleuko/qiad041.
49. Nicosia M, Lee J, Beavers A, Kish D, Farr GW, McQuirk PR, et al. Water channel aquaporin 4 is required for T cell receptor mediated lymphocyte activation. *J Leukoc Biol*. 2023; 113 (6): 544–54. DOI: 10.1093/jleuko/qiad010.
50. Skucas VA, Mathews IB, Yang J, Cheng Q, Treister A, Duffy AM, et al. Impairment of select forms of spatial memory and neurotrophin-dependent synaptic plasticity by deletion of glial aquaporin-4. *J Neurosci*. 2011; 31: 6392–7. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.6249-10.2011.
51. Zhang J, Li Y, Chen ZG, Dang H, Ding JH, Fan Y, et al. Glia protein aquaporin-4 regulates aversive motivation of spatial memory in Morris water maze. *CNS Neurosci Ther*. 2013; 19: 937–44. DOI: 10.1111/cns.12191.
52. Nemat-Gorgani M, Jensen MA, Davis RW. Glymphatic system dysregulation as a key contributor to myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome. *Int J Mol Sci*. 2025; 26 (23): 11524. DOI: 10.3390/ijms262311524.
53. Turpaev KT. Транскрипционный фактор KLF2 и его роль в регуляции воспалительных процессов. *Обзор. Биохимия*, 2020; 85 (1): 64–79 DOI: 10.31857/S0320972520010054. Russian.
54. Xu S, Liu Y, Ding Y, Luo S, Zheng X, Wu X, et al. The zinc finger transcription factor, KLF2, protects against COVID-19 associated endothelial dysfunction. *Signal Transduct Target Ther*. 2021; 6 (1): 266. DOI: 10.1038/s41392-021-00690-5.
55. Lei L, Chen M, Wang C, Jiang X, Li Y, Wang W, et al. Trichostatin D as a Novel KLF2 Activator Attenuates TNF α -Induced Endothelial Inflammation. *Int J Mol Sci*. 2022; 23 (21): 13477. DOI: 10.3390/ijms232113477.
56. Jha P, Das H. KLF2 in Regulation of NF- κ B-Mediated Immune Cell Function and Inflammation. *Int J Mol Sci*. 2017; 18 (11): 2383. DOI: 10.3390/ijms18112383.
57. Tsui C, Heyden L, Wen L, Gago da Graça C, Potemkin N, Frolov A, et al. Lymph nodes fuel KLF2-dependent effector CD8 $^{+}$ T cell differentiation during chronic infection and checkpoint blockade. *Nat Immunol*. 2025; 26 (10): 1752–65. DOI: 10.1038/s41590-025-02276-7.

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ ПОСЛЕ БЫСТРОГО НЕБНОГО РАСШИРЕНИЯ У ПОДРОСТКОВ

О. М. Мрикаева^{1✉}, Ф. Т. Ахматова¹, М. Р. Какаева¹, Е. У. Расуханова¹, С. С-Х. Эльмурзаев², Б. Х. Джабраилов², С. Т. Юсупова², С. Л. Тугуева², С. М. Идрисова²

¹ Северо-Осетинский государственный университет имени К. Л. Хетагурова, Владикавказ, Россия

² Северо-Осетинская государственная медицинская академия, Владикавказ, Россия

Быстрое небное расширение может влиять не только на размеры верхней челюсти, но и на проходимость верхних дыхательных путей у подростков, однако вклад зубо-опорных и мини-винт-ассистированных аппаратов требует уточнения. Цель работы — оценить морфофункциональные изменения верхних дыхательных путей после быстрого небного расширения и сопоставить динамику при использовании Hyrax и MARPE. Проведено проспективное пилотное исследование 24 подростков 12–16 лет с трансверсальной недостаточностью верхней челюсти: в 14 наблюдениях применяли Hyrax, в 10 — MARPE. Контрольные точки: T0 — до лечения, T1 — через 6 месяцев после завершения активации. Оценивали объем полости носа, носоглотки и ротоглотки, минимальную площадь ретропалатального уровня, суммарное носовое сопротивление при 150 Па и балл NOSE. После лечения объем полости носа увеличился на 14,6% ($p < 0,001$), объем носоглотки — на 8,9% ($p = 0,003$), минимальная площадь ретропалатального уровня — на 12,1% ($p = 0,012$), суммарное носовое сопротивление снизилось на 24,7% ($p < 0,001$), балл NOSE — на 35,4 пункта ($p < 0,001$). Изменение объема ротоглотки не достигло статистической значимости ($p = 0,091$). Межгрупповых различий между Hyrax и MARPE не выявлено ($p > 0,05$). Быстрое небное расширение улучшило показатели полости носа и носоглотки; сравнение методик требует исследований с априорным расчетом выборки.

Ключевые слова: быстрое небное расширение, MARPE, верхние дыхательные пути, КЛИТ, риноманометрия, NOSE, подростки, носовая полость, носоглотка

Вклад авторов: О. М. Мрикаева — концепция и дизайн исследования, научное руководство, редактирование текста; Ф. Т. Ахматова, М. Р. Какаева, Е. У. Расуханова — сбор клинического материала, формирование базы данных, статистическая обработка, подготовка рукописи; С. С-Х. Эльмурзаев, Б. Х. Джабраилов, С. Т. Юсупова, С. Л. Тугуева, С. М. Идрисова — анализ литературы, проведение морфометрических и функциональных измерений, оформление рукописи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России (протокол № 4 от 18 сентября 2025 г.). Добровольное информированное согласие было подписано родителями (законными представителями) всех несовершеннолетних участников; подростки дали согласие на участие в обследовании и обработку обезличенных данных.

✉ **Для корреспонденции:** Оксана Масалбековна Мрикаева
ул. Ватутина, 44–46, г. Владикавказ, 362025, Россия, Республика Северная Осетия — Алания; mrikaeva-o@yandex.ru

Статья получена: 19.03.2026 **Статья принята к печати:** 05.05.2026 **Опубликована онлайн:** 18.05.2026

DOI: 10.24075/vrgmu.2026.022

Авторские права: © 2026 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/>).

MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL CHANGES IN THE UPPER RESPIRATORY TRACT FOLLOWING RAPID PALATAL EXPANSION IN ADOLESCENTS

Mrikaeva OM^{1✉}, Akhmatova FT¹, Kakaeva MR¹, Rasukhanova EU¹, Elmurzaev SS-Kh², Dzhabrailov BKH², Yusupova ST², Tugueva SL², Idrisova SM²

¹ North Ossetian State University named after K.L. Khetagurov, Vladikavkaz, Russia

² North Ossetian State Medical Academy, Vladikavkaz, Russia

Rapid palatal expansion may affect not only maxillary dimensions but also upper airway patency in adolescents; however, the role of tooth-supported and miniscrew-assisted appliances remains to be clarified. This study aimed to assess morphological and functional changes in the upper respiratory tract associated with rapid palatal expansion and to compare these changes between the use of Hyrax and MARPE systems. We conducted a prospective pilot study involving 24 adolescents aged 12–16 years with transverse maxillary insufficiency. Fourteen participants received Hyrax appliances, while ten received MARPE devices. Time points: T0 — before treatment, T1 — 6 months after completion of activation. The measured indicators were the volume of the nasal cavity, nasopharynx, and oropharynx, the minimum area of the retropalatal level, and the total nasal resistance at 150 Pa. We also calculated the NOSE score. After treatment, the volume of the nasal cavity increased by 14.6% ($p < 0.001$), nasopharyngeal volume by 8.9% ($p = 0.003$), the minimum area of the retropalatal level by 12.1% ($p = 0.012$), total nasal resistance decreased by 24.7% ($p < 0.001$), and NOSE score by 35.4 points ($p < 0.001$). The change in oropharyngeal volume was insignificant ($p = 0.091$). We established no differences between Hyrax and MARPE groups ($p > 0.05$). Rapid palatal expansion improved nasal cavity and nasopharynx parameters. Further comparisons of techniques require a priori sample size calculations.

Keywords: rapid palatal expansion, MARPE, upper airway, CBCT, rhinomanometry, NOSE, adolescents, nasal cavity, nasopharynx

Author contribution: Mrikayeva OM — study concept and design, scientific guidance, text editing; Akhmatova FT, Kakaeva MR, Rasukhanova EU — collection of clinical material, database compilation, statistical processing, manuscript preparation; Elmurzaev SS-Kh, Dzhabrailov BKH, Yusupova ST, Tugueva SL, Idrisova SM — literature analysis, morphometry and functional measurements, manuscript formalization.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the local Ethics Committee of North Ossetian State Medical Academy of the Ministry of Health of the Russian Federation (Minutes No. 4 of September 18, 2025). Parents or legal representatives have voluntarily signed informed consent forms for all underage participants; adolescents have consented to medical examination and the processing of anonymized data.

✉ **Correspondence should be addressed:** Oksana M. Mrikayeva
Vatutina, 44-46, Vladikavkaz, 362025, Russia, Republic of North Ossetia — Alania; mrikaeva-o@yandex.ru

Received: 19.03.2026 **Accepted:** 05.05.2026 **Published online:** 18.05.2026

DOI: 10.24075/brsmu.2026.022

Copyright: © 2026 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/>).

Быстрое небное расширение (БНР) применяют у пациентов с трансверзальной недостаточностью верхней челюсти и рассматривают не только как ортодонтический, но и как функциональный метод коррекции нарушенного носового дыхания. Методика, ее возрастные аспекты и варианты со скелетной опорой описаны в отечественных клинических работах [1–4]. Раскрытие срединного небного шва сопровождается увеличением ширины дна полости носа и может приводить к уменьшению сопротивления воздушному потоку, что особенно значимо у подростков с ротовым дыханием, жалобами на заложенность носа и сочетанной ЛОР-патологией [5–7].

Оценка эффекта БНР на верхние дыхательные пути требует сочетания морфологических и функциональных методов. Активная передняя риноманометрия при референс-давлении 150 Па позволяет объективизировать суммарное носовое сопротивление, а шкала NOSE — субъективную выраженность назальной обструкции и клиническую значимость изменений [8, 9]. Влияние носового цикла, сезонных колебаний слизистой оболочки и различий в положении языка может менять показатели проходимости даже при неизменной костной архитектуре, поэтому интерпретация результатов должна быть стандартизирована [10].

При анализе данных конусно-лучевой компьютерной томографии (КЛКТ) клинически значимы не только суммарные объемы полости носа и глотки, но и минимальная площадь поперечного сечения, особенно на ретропалатальном уровне, поскольку именно этот показатель теснее связан с аэродинамикой воздушного потока [11–16]. В то же время изменения ротоглотки после БНР остаются менее предсказуемыми, а возможные преимущества скелетной опоры у подростков требуют аккуратной интерпретации и отдельной статистической верификации [17–19].

Цель исследования — оценить морфофункциональные изменения верхних дыхательных путей у подростков после быстрого небного расширения и сопоставить динамику в зависимости от типа расширителя.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Проведено проспективное пилотное клиническое исследование на базе кафедры стоматологии № 2 и клинической базы ортодонтического профиля в 2024–2025 гг. В исследование включены 24 подростка в возрасте 12–16 лет (средний возраст $13,9 \pm 1,3$ года), из них 14 девочек и 10 мальчиков. Все пациенты имели трансверзальную недостаточность верхней челюсти не менее 4 мм, односторонний или двусторонний перекрестный прикус и жалобы на затруднение носового дыхания различной степени выраженности. Априорный расчет размера выборки не проводили; исследование рассматривали как пилотное и направленное на первичную оценку морфофункциональной динамики и пилотное сопоставление двух вариантов расширения.

Критерии включения: наличие клинических и КЛКТ-признаков сужения верхней челюсти, отсутствие предшествующего ортодонтического лечения, возможность выполнения контрольного обследования через 6 месяцев после завершения активации аппарата. Критерии исключения: врожденные черепно-лицевые аномалии, острые воспалительные заболевания ЛОР-органов на момент включения, выраженная гипертерфия аденоидной ткани, требующая первичного хирургического

лечения, декомпенсированный аллергический ринит, отказ от контрольного обследования.

В 14 наблюдениях использовали зубо-опорный расширитель типа Hyrax, в 10 — мини-винт-ассистированное расширение (MARPE). Активацию выполняли по 0,25 мм 2 раза в сутки до достижения клинической гиперкоррекции; суммарная величина расширения составляла 6–8 мм. После завершения активации аппарат оставляли в качестве ретенционного на 6 месяцев.

Контрольные точки исследования: T0 — до начала лечения; T1 — через 6 месяцев после завершения активации аппарата. Именно сопоставление T0 и T1 использовали для основного анализа. Все инструментальные обследования выполняли на одном и том же штатном оборудовании центра по унифицированному протоколу. Всем пациентам в обеих точках проводили КЛКТ, активную переднюю риноманометрию при референс-давлении 150 Па и анкетирование по шкале NOSE. На КЛКТ оценивали объем полости носа, носоглотки и ротоглотки, а также минимальную площадь поперечного сечения на ретропалатальном уровне. Исследование выполняли в положении естественной головы, при привычной окклюзии и спокойном носовом дыхании. Повторное КЛКТ проводили в рамках клинически обоснованного ортодонтического контроля с соблюдением принципов дозовой оптимизации у подростков [20].

Статистическую обработку и *post hoc*-оценку мощности выполняли в среде Python 3.11 с использованием библиотек SciPy и statsmodels. Нормальность распределения количественных переменных и величин их изменений ($\Delta = T1 - T0$) проверяли критерием Шапиро–Уилка. При нормальном распределении результаты представляли в виде $M \pm SD$; для парных сравнений между T0 и T1 использовали парный *t*-критерий Стьюдента, для межгруппового сопоставления изменений между Hyrax и MARPE — *t*-критерий Стьюдента для независимых выборок. При отклонении от нормальности применяли критерий Уилкоксона и *U*-критерий Манна–Уитни соответственно. Для межгруппового анализа сопоставляли величины относительных изменений; уровень статистической значимости принимали равным $p < 0,05$. Поскольку исследование носило пилотный характер, априорный расчет размера выборки не проводили. *Post hoc*-оценка мощности показала, что при общей выборке $n = 24$ парный анализ обеспечивал 80%-ю мощность для выявления не менее чем средне-крупного эффекта ($d_z \geq 0,60$), тогда как при $n = 14$ и $n = 10$ межгрупповое сопоставление обеспечивало такую же мощность только для выявления очень крупного эффекта ($d \geq 1,21$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Полученные количественные данные общей группы представлены в табл. 1, результаты пилотного межгруппового сопоставления относительных изменений — в табл. 2.

После БНР зарегистрировано статистически значимое увеличение объема полости носа и носоглотки. Наиболее выраженная положительная динамика определялась в передних отделах полости носа и по линии носового дна. Изменение объема ротоглотки было небольшим (+3,2%) и в общей группе не достигло статистической значимости ($p = 0,091$).

По данным активной передней риноманометрии суммарное носовое сопротивление снизилось с $0,41 \pm 0,08$ до

Таблица 1. Динамика показателей верхних дыхательных путей в общей группе после БНР

Показатель	До лечения	После лечения	Изменение	<i>p</i>
Объем полости носа, см ³	14,6 ± 2,8	16,7 ± 3,1	+14,6%	< 0,001
Объем носоглотки, см ³	8,9 ± 1,9	9,7 ± 2,0	+8,9%	0,003
Объем ротоглотки, см ³	12,4 ± 2,6	12,8 ± 2,7	+3,2%	0,091
Минимальная площадь ретропалатального уровня, мм ²	126 ± 28	141 ± 31	+12,1%	0,012
Суммарное носовое сопротивление, Па/см ³ /с	0,41 ± 0,08	0,31 ± 0,07	-24,7%	< 0,001
NOSE, баллы	61,4 ± 12,7	26,0 ± 10,8	-35,4 пункта	< 0,001

Примечание: для морфометрических и функциональных показателей приведено относительное изменение по отношению к исходному значению; для шкалы NOSE — абсолютное изменение в пунктах. Дополнительно снижение суммарного балла NOSE составило 57,8% от исходного уровня.

0,31 ± 0,07 Па/см³/с (*p* < 0,001). Клинически это сопровождалось уменьшением выраженности назальной обструкции: средний балл по шкале NOSE снизился с 61,4 ± 12,7 до 26,0 ± 10,8, что соответствует уменьшению на 35,4 пункта, или на 57,8% от исходного уровня. Из 24 пациентов у 19 отмечалось более свободное носовое дыхание уже в первые недели ретенционного периода.

Пилотное межгрупповое сопоставление относительных изменений по показателям, представленным в табл. 2, не выявило статистически значимых различий между Нурах и MARPE (*p* > 0,05). Вместе с тем в группе MARPE численно отмечались более выраженные морфометрические изменения: прирост минимальной площади ретропалатального уровня составил 15,4 против 9,8% в группе зубо-опорных аппаратов, а увеличение объема полости носа — 16,8 против 13,0% соответственно. Различия по снижению суммарного носового сопротивления между подгруппами были менее выраженными (-27,6 и -22,5%). С учетом ограниченной численности подгрупп и недостаточной мощности настоящего пилотного исследования эти результаты следует интерпретировать как формирующие гипотезу, а не как доказанное преимущество одной методики. Серьезных осложнений не зарегистрировано; отмечались транзиторный дискомфорт, межрезцовая диастема и чувство давления в области опорных элементов.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные результаты показывают, что основной эффект БНР у подростков реализуется на уровне полости носа и носоглотки. Это согласуется с литературными данными о расширении средней зоны лица и изменениях перегородки носа у детей, а также с КЛКТ-наблюдениями, указывающими на прямую связь между раскрытием срединного небного шва и увеличением объема верхних дыхательных путей [2, 11, 13–15].

Выявленное снижение суммарного носового сопротивления соответствует классическим исследованиям Hershey, Hartgerink и De Felipe, показавшим, что БНР

может улучшать носовую проходимость как в ближайшие, так и в отдаленные сроки наблюдения [5–7]. Наши данные по минимальной площади ретропалатального уровня и общей тенденции к увеличению объема носоглотки также сопоставимы с результатами трехмерных КЛКТ-исследований, систематических обзоров и метаанализов [12, 14–19].

Небольшая и вариабельная динамика ротоглотки, по-видимому, обусловлена тем, что на этот сегмент влияют не только костные изменения, но и положение языка, вертикальный тип роста, состояние мягкого неба и сопутствующая ЛОР-патология. Поэтому у подростков с выраженной гипертрофией носоглоточной миндалины, остаточной девиацией перегородки или неблагоприятным миофункциональным паттерном ожидать равномерного прироста всех отделов верхних дыхательных путей не следует.

При пилотном межгрупповом сопоставлении в группе MARPE отмечалась тенденция к большей морфометрической динамике, однако ни одно из сопоставленных межгрупповых различий статистической значимости не достигло (*p* > 0,05). Подобное направление изменений соответствует отдельным публикациям по мини-винт-ассистированному расширению [17–19]. Однако в настоящем исследовании малочисленность и неравенство подгрупп, а также ограниченная мощность не позволяют интерпретировать эти наблюдения как доказанное преимущество MARPE; клиническое улучшение носового дыхания наблюдалось при обеих техниках расширения.

Ограничения исследования

К ограничениям настоящего исследования относятся пилотный характер работы, небольшой объем выборки, отсутствие априорного расчета мощности и рандомизации, ограниченный срок наблюдения, а также возможное влияние сезонных колебаний слизистой оболочки носа на функциональные показатели. Post hoc-оценка мощности показала достаточность общей выборки главным образом для выявления крупных внутригрупповых эффектов и недостаточность для

Таблица 2. Пилотное межгрупповое сопоставление относительных изменений после БНР

Показатель	Нурах (<i>n</i> = 14)	MARPE (<i>n</i> = 10)	Численная тенденция	<i>p</i>
Объем полости носа, %	+0,13	+0,168	выше при MARPE	> 0,05
Минимальная площадь ретропалатального уровня, %	+0,098	+0,154	выше при MARPE	> 0,05
Суммарное носовое сопротивление, %	-22,5%	-27,6%	снижение больше при MARPE	> 0,05

Примечание: представлены относительные изменения по отношению к исходному значению по показателям, для которых в подгруппах отмечались наиболее заметные различия по величине эффекта; во всех приведенных межгрупповых сравнениях статистическая значимость не достигнута.

надежного выявления умеренных межгрупповых различий. Подгрупповой анализ Нурах и MARPE носил пилотный характер и не позволяет делать вывод о статистическом преимуществе одной методики. Кроме того, в настоящей работе не были детализированы торговые наименования оборудования, программного обеспечения для КЛКТ-сегментации, дозиметрические параметры и формальная оценка меж- и внутриоператорной воспроизводимости, что ограничивает воспроизводимость исследования. В дальнейшем целесообразны более крупные проспективные исследования со стандартизированной КЛКТ-сегментацией, единым протоколом ринофункционального обследования и длительным ретенционным контролем.

ВЫВОДЫ

Быстрое небное расширение у подростков сопровождается статистически значимым увеличением объема полости

носа и носоглотки, увеличением минимальной площади ретропалатального уровня, снижением суммарного носового сопротивления и уменьшением выраженности назальной обструкции по шкале NOSE. Изменение объема ротоглотки в общей группе было небольшим и статистической значимости не достигло ($p = 0,091$), что указывает на неоднородность ответа разных отделов верхних дыхательных путей на БНР. Пилотное межгрупповое сопоставление Нурах и MARPE по основным морфометрическим и функциональным показателям не выявило статистически значимых различий; отмеченная в группе MARPE более выраженная морфометрическая динамика требует подтверждения в исследованиях с достаточной мощностью. Post hoc-оценка мощности показала, что настоящее исследование было пригодно прежде для выявления крупных эффектов; для доказательного сравнения методик необходимы более крупные проспективные работы с априорным расчетом выборки.

Литература

- Смирнова А. А., Гаврилова О. А., Моторнова Е. В., Михалева И. И., Федорова К. В., Соколова Л. Н. Показания к применению аппаратов быстрого небного расширения на основании данных конусно-лучевой компьютерной томографии (пилотное исследование). *Эндодонтия Today*. 2022; 20 (2): 183–8. DOI: 10.36377/1726-7242-2022-20-2-183-188.
- Арсенина О. И., Хачиева А. В., Попова Н. В., Попова А. В., Сердиченко А. В. Влияние быстрого небного расширения на изменения параметров средней зоны лица и перегородку носа у детей. *Стоматология*. 2025; 104 (3): 57–65. DOI: 10.17116/stomat202510403157.
- Симакова А. А., Гизоева Е. А., Гаспарян К. А., Гржибовский А. М., Горбатова М. А. Применение метода быстрого небного расширения в разных возрастных группах: обзор клинических случаев. *Наука и здравоохранение*. 2022; 24 (1): 207–14.
- Песенко Е. В., Гуненкова И. В., Оспанова Г. Б., Волчек Д. А., Мохирев М. А., Бызов Н. А. Применение скелетной опоры при лечении сужения верхней челюсти у пациентки в сменном прикусе (клинический случай). *Клиническая стоматология*. 2022; 25 (4): 144–8. DOI: 10.37988/1811-153X_2022_4_144.
- Hershey HG, Stewart BL, Warren DW. Changes in nasal airway resistance associated with rapid maxillary expansion. *American Journal of Orthodontics*. 1976; 69 (3): 274–84. DOI: 10.1016/0002-9416(76)90076-2.
- Hartgerink DV, Vig PS, Abbott DW. The effect of rapid maxillary expansion on nasal airway resistance. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. 1987; 92 (5): 381–9. DOI: 10.1016/0889-5406(87)90258-7.
- De Felipe NLO, da Silveira AC, Viana G, Kusnoto B, Smith B, Evans CA. Relationship between rapid maxillary expansion and nasal cavity size and airway resistance: short- and long-term effects. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. 2008; 134 (3): 370–82. DOI: 10.1016/j.ajodo.2006.10.034.
- Stewart MG, Witsell DL, Smith TL, Weaver EM, Yueh B, Hannley MT. Development and validation of the Nasal Obstruction Symptom Evaluation (NOSE) scale. *Otolaryngology - Head and Neck Surgery*. 2004; 130 (2): 157–63. DOI: 10.1016/j.otohns.2003.09.016.
- Clement PAR. Rhinomanometry. *Allergy*. 1997; 52 (33 Suppl): 26–27. DOI: 10.1111/j.1398-9995.1997.tb04801.x.
- Шиленкова В. В., Федосеева О. В. Носовой цикл. *Российская ринология*. 2019; 27 (3): 141–7. DOI: 10.17116/rosrino201927031141.
- El H, Palomo JM. Three-dimensional evaluation of upper airway following rapid maxillary expansion: a CBCT study. *Angle Orthodontist*. 2014; 84 (2): 265–73. DOI: 10.2319/012313-71.1.
- Buck LM, Dalci O, Darendeliler MA, Papageorgiou SN, Papadopoulou AK. Volumetric upper airway changes after rapid maxillary expansion: a systematic review and meta-analysis. *European Journal of Orthodontics*. 2017; 39 (5): 463–73. DOI: 10.1093/ejo/cjw048.
- Ribeiro ANC, de Paiva JB, Rino Neto J, Illipronti-Filho E, Trivino T, Fantini SM. Upper airway expansion after rapid maxillary expansion evaluated with cone beam computed tomography. *Angle Orthodontist*. 2012; 82 (3): 458–63. DOI: 10.2319/030411-157.1.
- Zeng J, Gao X. A prospective CBCT study of upper airway changes after rapid maxillary expansion. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. 2013; 77 (11): 1805–10. DOI: 10.1016/j.ijporl.2013.07.028.
- Chang Y, Koenig LJ, Pruszyński JE, Bradley TG, Bosio JA, Liu D. Dimensional changes of upper airway after rapid maxillary expansion: a prospective cone-beam computed tomography study. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. 2013; 143 (4): 462–70. DOI: 10.1016/j.ajodo.2012.11.019.
- Izuka EN, Feres MFN, Pignatari SSN. Immediate impact of rapid maxillary expansion on upper airway dimensions and on the quality of life of mouth breathers. *Dental Press Journal of Orthodontics*. 2015; 20 (3): 43–49. DOI: 10.1590/2176-9451.20.3.043-049.oar.
- Li Q, Tang H, Liu X, Luo Q, Jiang Z, Martin D, et al. Comparison of dimensions and volume of upper airway before and after mini-implant assisted rapid maxillary expansion. *Angle Orthodontist*. 2020; 90 (3): 432–41. DOI: 10.2319/080919-522.1.
- Mehta S, Wang D, Kuo C-L, Mu J, Vich ML, Allareddy V, et al. Long-term effects of mini-screw-assisted rapid palatal expansion on airway: a three-dimensional cone-beam computed tomography study. *Angle Orthodontist*. 2021; 91 (2): 195–205. DOI: 10.2319/062520-586.1.
- Li L, Zhai M, Wang M, Cui S, Cheng C, Wang J, Wei F. Three-Dimensional Evaluation Effects of Microimplant-Assisted Rapid Palatal Expansion on the Upper Airway Volume: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Clinical Medicine*. 2023; 12 (5): 1790. DOI: 10.3390/jcm12051790.
- Oenning AC, Jacobs R, Pauwels R, Stratis A, Hedesiu M, Salmon B. DIMITRA Research Group. Cone-beam CT in paediatric dentistry: DIMITRA project position statement. *Pediatric Radiology*. 2018; 48 (3): 308–16. DOI: 10.1007/s00247-017-4012-9.

References

- Smirnova AA, Gavrilova OA, Motomova EV, Mikhaleva II, Fedorova KV, Sokolova LN. Indications for treatment of rapid palatal expansion devices based on cone-beam computed tomography (pilot study). *Endodontiya Today*. 2022; 20 (2): 183–8. DOI: 10.36377/1726-7242-2022-20-2-183-188. Russian.
- Arsenina OI, Khachieva AV, Popova NV, Popova AV, Serdichenko AV. Effect of rapid palatal expansion on changes in midface parameters and nasal septum in children. *Stomatologiya*. 2025; 104 (3): 57–65. DOI: 10.17116/stomat202510403157. Russian.
- Simakova AA, Gizoeva EA, Gasparyan KA, Grzhibovskii AM, Gorbatova MA. Rapid maxillary expansion in different age-groups: a case-series presentation. *Nauka i zdravookhranenie*. 2022; 24 (1): 207–14. Russian.
- Pesenko EV, Gunenkova IV, Ospanova GB, Volchek DA, Mokhirev MA, Byzov NA. The skeletal anchorage in the orthodontic treatment of constricted maxilla in the early mixed dentition: a case report. *Klinicheskaya stomatologiya*. 2022; 25 (4): 144–8. DOI: 10.37988/1811-153X_2022_4_144. Russian.
- Hershey HG, Stewart BL, Warren DW. Changes in nasal airway resistance associated with rapid maxillary expansion. *American Journal of Orthodontics*. 1976; 69 (3): 274–84. DOI: 10.1016/0002-9416(76)90076-2.
- Hartgerink DV, Vig PS, Abbott DW. The effect of rapid maxillary expansion on nasal airway resistance. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. 1987; 92 (5): 381–9. DOI: 10.1016/0889-5406(87)90258-7.
- De Felipe NLO, da Silveira AC, Viana G, Kusnoto B, Smith B, Evans CA. Relationship between rapid maxillary expansion and nasal cavity size and airway resistance: short- and long-term effects. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. 2008; 134 (3): 370–82. DOI: 10.1016/j.ajodo.2006.10.034.
- Stewart MG, Witsell DL, Smith TL, Weaver EM, Yueh B, Hannley MT. Development and validation of the Nasal Obstruction Symptom Evaluation (NOSE) scale. *Otolaryngology - Head and Neck Surgery*. 2004; 130 (2): 157–63. DOI: 10.1016/j.otohns.2003.09.016.
- Clement PAR. Rhinomanometry. *Allergy*. 1997; 52 (33 Suppl): 26–27. DOI: 10.1111/j.1398-9995.1997.tb04801.x.
- Shilenkova VV, Fedoseeva OV. Nosovoy cikl. *Rossiyskaya rinologia*. 2019; 27 (3): 141–7. DOI: 10.17116/rosrino201927031141. Russian.
- El H, Palomo JM. Three-dimensional evaluation of upper airway following rapid maxillary expansion: a CBCT study. *Angle Orthodontist*. 2014; 84 (2): 265–73. DOI: 10.2319/012313-71.1.
- Buck LM, Dalci O, Darendeliler MA, Papageorgiou SN, Papadopoulou AK. Volumetric upper airway changes after rapid maxillary expansion: a systematic review and meta-analysis. *European Journal of Orthodontics*. 2017; 39 (5): 463–73. DOI: 10.1093/ejo/cjw048.
- Ribeiro ANC, de Paiva JB, Rino Neto J, Illipronti-Filho E, Trivino T, Fantini SM. Upper airway expansion after rapid maxillary expansion evaluated with cone beam computed tomography. *Angle Orthodontist*. 2012; 82 (3): 458–63. DOI: 10.2319/030411-157.1.
- Zeng J, Gao X. A prospective CBCT study of upper airway changes after rapid maxillary expansion. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. 2013; 77 (11): 1805–10. DOI: 10.1016/j.ijporl.2013.07.028.
- Chang Y, Koenig LJ, Pruszyński JE, Bradley TG, Bosio JA, Liu D. Dimensional changes of upper airway after rapid maxillary expansion: a prospective cone-beam computed tomography study. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. 2013; 143 (4): 462–70. DOI: 10.1016/j.ajodo.2012.11.019.
- Izuka EN, Feres MFN, Pignatari SSN. Immediate impact of rapid maxillary expansion on upper airway dimensions and on the quality of life of mouth breathers. *Dental Press Journal of Orthodontics*. 2015; 20 (3): 43–49. DOI: 10.1590/2176-9451.20.3.043-049.oar.
- Li Q, Tang H, Liu X, Luo Q, Jiang Z, Martin D, et al. Comparison of dimensions and volume of upper airway before and after mini-implant assisted rapid maxillary expansion. *Angle Orthodontist*. 2020; 90 (3): 432–41. DOI: 10.2319/080919-522.1.
- Mehta S, Wang D, Kuo C-L, Mu J, Vich ML, Allareddy V, et al. Long-term effects of mini-screw-assisted rapid palatal expansion on airway: a three-dimensional cone-beam computed tomography study. *Angle Orthodontist*. 2021; 91 (2): 195–205. DOI: 10.2319/062520-586.1.
- Li L, Zhai M, Wang M, Cui S, Cheng C, Wang J, Wei F. Three-Dimensional Evaluation Effects of Microimplant-Assisted Rapid Palatal Expansion on the Upper Airway Volume: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Clinical Medicine*. 2023; 12 (5): 1790. DOI: 10.3390/jcm12051790.
- Oenning AC, Jacobs R, Pauwels R, Stratis A, Hedesiu M, Salmon B. DIMITRA Research Group. Cone-beam CT in paediatric dentistry: DIMITRA project position statement. *Pediatric Radiology*. 2018; 48 (3): 308–16. DOI: 10.1007/s00247-017-4012-9.

ОРИГИНАЛЬНЫЙ КОМПЛЕКС ПЕПТИДОВ ВЛИЯЕТ НА СКОРОСТЬ ПОТРЕБЛЕНИЯ КИСЛОРОДА ТКАНЬЮ ПРОСТАТЫ У КРЫС

А. О. Лобкарев^{1,2}✉, А. А. Мужехоев³, М. К. Евлоев³, Р. Б. Джандигов⁴, И. А. Коригов⁴

¹ Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

² Клиника «Мать и дитя Казань», Казань, Россия

³ Назрановская центральная районная больница имени Б. Б. Бекботова, Магас, Россия

⁴ Республиканский центр медицины катастроф и скорой помощи, Магас, Россия

Несмотря на успешный опыт использования оригинального комплекса пептидов (ОКП) российского производства, его фармакодинамика изучена не полностью. Целью исследования было определить влияние употребления ОКП на скорость потребления кислорода (СПК) тканью простаты у белых беспородных крыс. Эксперименты проводили на 65 взрослых белых беспородных крысах мужского пола (возраст — 6 месяцев, масса — $410,8 \pm 2,7$ г). Крысы содержались в стандартных условиях вивария, каждую в отдельной клетке, питание и питьевой режим — стандартные. Различие в содержании животных заключалось в том, что животным экспериментальной группы ($n = 49$) давали ОКП в течение 20 дней перед днем эксперимента: ежедневно 0,35 мг (0,85 мг/кг) препарата растворяли в 20 мл питьевой воды, которую животные пили из поилки. В группе контроля ($n = 16$) препарат не вводили. Выполняли простатэктомию. СПК тканью простаты измеряли оптическим датчиком растворенного кислорода с термоэлектрическим преобразователем ДКТП-03. Показания концентрации O_2 (CO_2) в мг/л фиксировали ежеминутно на протяжении 60 минут. Установлены статистически значимые различия в значениях CO_2 на финише экспериментов между группами ($p < 0,05$). Показано, что ОКП повышает СПК тканью простаты у белых беспородных крыс.

Ключевые слова: оригинальный комплекс пептидов, простата, демография, скорость потребления кислорода, инновации

Вклад авторов: А. О. Лобкарев — концепция, выполнение исследований, обработка материала, редактирование статьи; А. А. Мужехоев, Р. Б. Джандигов, М. К. Евлоев, И. А. Коригов — обзор литературы, статистическая обработка, написание статьи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом Казанской государственной медицинской академии (протокол № 3/05 от 06 мая 2015 г.). Условия содержания животных и работы с ними соответствовали требованиям Хельсинкской декларации.

✉ **Для корреспонденции:** Алексей Олегович Лобкарев
ул. Даурская, д. 34А, г. Казань, 420087, Россия; aolobkarev@mail.ru

Статья получена: 19.05.2026 **Статья принята к печати:** 10.06.2026 **Опубликована онлайн:** 21.06.2026

DOI: 10.24075/vrgmu.2026.033

Авторские права: © 2026 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/>).

THE ORIGINAL PEPTIDE COMPLEX AFFECTS THE PROSTATE TISSUE OXYGEN CONSUMPTION RATE IN RATS

Lobkarev AO^{1,2}✉, Muzhekhoev AA³, Evloev MK³, Dzhandigov RB⁴, Korigov IA⁴

¹ Kazan State Medical University, Kazan, Russia

² Mother and Child Clinic, Kazan, Russia

³ Bekbotov Nazran Central District Hospital, Magas, Russia

⁴ Republican Center for Disaster Medicine and Emergency Care, Magas, Russia

Despite the successful practice of using the Russian-made original peptide complex (OPC), the complex pharmacodynamics is poorly understood. The study aimed to assess the effect of taking OPC on the prostate tissue oxygen consumption rate (OCR) in white outbred rats. The experiments involved 65 adult male white outbred rats (age 6 months, body weight 410.8 ± 2.7 g). The rats were kept under standard vivarium condition, each in a separate cage; the diet and drinking regime were standard. The difference in animal housing was that animals of the experimental group ($n = 49$) received OPC throughout 20 days before the day of the experiment: every day 0.35 mg (0.85 mg/kg) of the drug were dissolved in 20 mL of the drinking water the animals drank from the trough. The drug was not administered to the control group ($n = 16$). A prostatectomy was performed. The prostate tissue OCR was measured using the DKTP-03 optical dissolved oxygen sensor with a thermoelectric converter. The O_2 concentration readings ($ConO_2$) in mg/L were recorded every minute throughout 60 min. Significant intergroup differences in $ConO_2$ values in the end of the experiment were found ($p < 0.05$). It has been shown that OPC increases the prostate tissue OCR in white outbred rats.

Keywords: original peptide complex, prostate, demography, oxygen consumption rate, innovations

Author contribution: Lobkarev AO — concept, research procedure, material processing, manuscript editing; Muzhekhoev AA, Dzhandigov RB, Evloev MK, Korigov IA — literature review, statistical processing, manuscript writing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Kazan State Medical Academy (protocol No. 3/05 dated 06 May 2015). Animals were kept and handled in accordance with the requirements of the Declaration of Helsinki.

✉ **Correspondence should be addressed:** Alexey O. Lobkarev
Daurskaya 34A, Kazan, 420087, Russia; aolobkarev@mail.ru

Received: 19.05.2026 **Accepted:** 10.06.2026 **Published online:** 21.06.2026

DOI: 10.24075/brsmu.2026.033

Copyright: © 2026 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/>).

Демографическая ситуация в России признана сложной [1]. Этот факт диктует потребность в изыскании новых средств для консервативного лечения мужчин, страдающих заболеваниями простаты, а также имеющих нарушения в спермограмме, так как с функциональными нарушениями простаты (в не меньшей степени, чем с дисфункцией яичек) связано ухудшение эякулята [2–3]. Тревожна и статистика по опухолевым заболеваниям, в частности, по раку предстательной железы (РПЖ); ряд ученых обоснованно считают хроническое воспаление ткани простаты предвестником и фактором возникновения РПЖ [4–5]. Необходимы прорывные, оригинальные лечебные подходы, одним из которых является российская разработка — использование оригинального комплекса пептидов (ОКП) простаты, семенников и надпочечников [6]. Нами накоплен опыт его успешного применения у мужчин с нарушениями функции мочевого пузыря и простаты, ассоциированными с хроническим невоспалительным простатитом (ХНП) и доброкачественной гиперплазией предстательной железы (ДГПЖ), которые в настоящее время во всем мире принято обозначать термином «симптомы нижних мочевых путей» (СНМП). Это позволяет полагать, что данный ОКП обладает фармакотерапевтическим действием на ткань простаты, так как способствует уменьшению СНМП и улучшению качества жизни мужчин.

Современное медицинское законодательство России разграничивает условия и порядок применения веществ, имеющих статус лекарств, и продуктов, обладающих статусом биологически активной добавки (БАД). Рассматриваемый ОКП относится к числу БАД [6]. Полагаем, что данный факт обуславливает недостаточное внимание ученых к этому перспективному продукту, который имеет в числе показаний к назначению расстройство репродуктивной системы, снижение качества спермы, а также широкий спектр СНМП. Другими словами, ОКП направлен на решение проблемы повышения рождаемости, качества жизни мужчин и их партнерш, способствует развитию активного долголетия, т. е. всех тех задач, которым присвоен статус приоритетной государственной важности [1]. Несмотря на очевидную оригинальность научных исследований, лежащих в основе создания инновационного продукта ОКП, а также на вполне успешный опыт (в том числе и наш) его использования у пациентов с ХНП, в научной литературе еще не сформировано четкое понимание тех факторов и условий, которые обуславливают индивидуализацию его эффективности у разных людей с, казалось бы, схожей симптоматикой и типичным анамнезом. В соответствии с официальной инструкцией, ОКП — это комплексный препарат. Его основными функциями являются нормализация синтеза тестостерона и увеличение либидо, восстановление функции предстательной железы, увеличение шансов на отцовство. Он эффективно профилактирует простатит, доброкачественную гиперплазию предстательной железы, корректирует проявления эректильной дисфункции [6].

В центре нашего внимания оказался также древний социокультурный феномен: в ряде стран Юго-Восточной Азии и Африки употребление в пищу семенников животных является элементом пищевого рациона [7]. Необходимо подчеркнуть, что рождаемость в этих регионах планеты держится на стабильно высоком уровне.

Нами было сделано предположение, что компоненты ОКП содержат фармакологически активные вещества, способные влиять на скорость потребления кислорода (СПК) тканью простаты, что может быть детерминантой их

эффективности у мужчин как с профилактической, так и с лечебной целью (например, при хроническом простатите, доброкачественной гиперплазии простаты, снижении качества эякулята). Данный комплекс вопросов еще ждет своих исследователей.

Цель исследования — изучить влияние применения ОКП на скорость потребления кислорода тканью простаты у белых беспородных крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на 65 взрослых белых беспородных крысах мужского пола. Возраст животных составлял 6 месяцев, масса — $410,8 \pm 2,7$ г. Критерии исключения: масса животных менее 350 г и более 450 г.

Крысы содержали в стандартных условиях вивария, каждую — в отдельной клетке. Питание и питьевой режим были стандартными. Единственное различие в содержании животных экспериментальной и контрольной групп заключалось в том, что животным экспериментальной группы ($n = 49$) давали ОКП в течение 20 дней перед днем эксперимента. Крысы имеют стабильную потребность в питье, что и было использовано нами для введения в их организм препарата: ежедневно $0,35$ мг препарата размешивали в 20 мл питьевой воды, которую животные пили самостоятельно с помощью поилки. Эта суточная доза соответствует $0,85$ мг/кг (суточной дозе для человека).

Группе контроля ($n = 16$) препарат не вводили. Остальные 49 животных (экспериментальная группа) получали ОКП.

Животные путем простой рандомизации были разделены на две группы. Устанавливали однородность экспериментальной и контрольной групп по массе с применением критерия Манна-Уитни [8].

Для премедикации каждому животному вводили ксилазин в дозе 25 мг/кг внутримышечно. Через 5 мин после премедикации вводили препарат Золетил-100 в дозе 10 мг/кг внутримышечно. Препарат Золетил-100 — это смесь тилетамина гидрохлорида и золазепам гидрохлорида в соотношении $1 : 1$. Под наркозом выполняли простатэктомию и сразу же после этого ткань простаты взвешивали и гомогенизировали. Далее $0,5$ г гомогената помещали в лабораторный стакан, заполняли его $15,0$ мл физиологического раствора.

Скорость потребления кислорода (СПК) тканью простаты измеряли российским оптическим датчиком растворенного кислорода (РК) с термоэлектрическим преобразователем ДКТП-03 [9]. ДКТП-03 является частью анализатора РК «Эксперт-009», который также выпускается в России [10]. Физико-химические принципы работы прибора основаны на уравнении Штерна-Фольмера. Во-первых, под действием фиолетового света определенной длины волны переходят в возбужденное состояние молекулы индикаторного вещества, содержащиеся в мембране датчика, контактирующей с жидкой средой, в которую этот датчик погружен. Во-вторых, чем больше молекулярного кислорода (O_2) в изучаемом растворе, тем быстрее этот O_2 «снимает» возбужденное состояние мембраны, возвращая его к исходному. Совокупность данных процессов приводит к появлению на экране прибора показаний концентрации растворенного O_2 , выраженной в мг/л [9, 10]. ДКТП-03 погружали в лабораторный стакан из стекла так, что стакан был доверху заполнен 15 мл $0,9\%$ -го раствора натрия хлорида и содержал $0,5$ г гомогената ткани простаты крысы, который

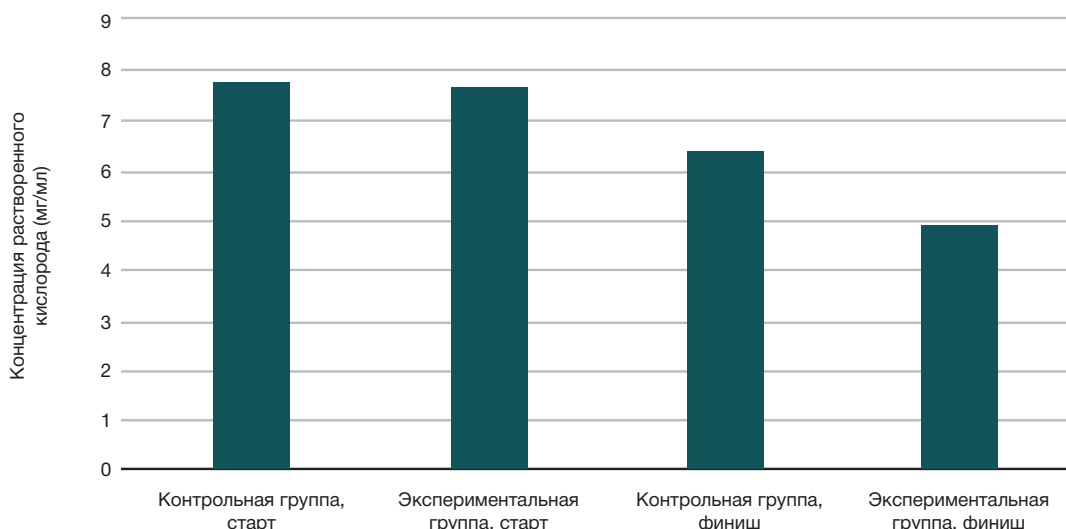


Рис. 1. Диаграмма сравнения концентрации растворенного кислорода на старте и финише экспериментов для контрольной и экспериментальной групп

получали сразу после простатэктомии. Далее в условиях герметичности проводили термостатирование гомогената при температуре 36,6 °С в течение 60 мин. В стакан погружали датчик ДКТП-03, подключенный к прибору «Эксперт-009». Термостатировали при температуре 36,6 °С с поддержанием герметичности. Показания концентрации O_2 в мг/л фиксировали ежеминутно на протяжении 60 мин. Далее ежеминутные показания концентрации O_2 , полученные во всех экспериментах, помещали в таблицу, вычисляли ежеминутные средние арифметические значения концентрации O_2 . Затем для них вычисляли натуральный логарифм (\ln) концентраций O_2 . По их значениям строили графики в системе координат «время — \ln концентрации». Исходили из того, что тангенс угла наклона кривой в системе координат «время — \ln концентрации» соответствует константе скорости элиминации, в нашем случае — скорости потребления кислорода [11].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты представлены на рис. 1 и 2. На старте экспериментов концентрация O_2 в контрольной группе составила $7,74 \pm 0,15$ мг/л; в экспериментальной группе она составила $7,61 \pm 0,07$ мг/л. Статистический анализ с помощью метода Манна-Уитни на старте экспериментов не выявил различий в значениях концентрации кислорода между контрольной и экспериментальными группами ($ZT = 0,69$) [8].

На финише экспериментов получены следующие результаты. Концентрация O_2 в контрольной группе составила $6,40 \pm 0,14$ мг/л; в экспериментальной группе она составила $4,89 \pm 0,07$ мг/л. С помощью критерия Манна-Уитни было установлено, что имеются статистически значимые различия в значениях концентрации O_2 на финише экспериментов в контрольной и экспериментальной группах ($ZT = 5,73$; это больше, чем 1,96, $p < 0,05$) [8].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Считаем эту установленную нами закономерность интересной, так как она позволяет объяснить с научных позиций ряд аспектов и, во-первых, физико-химические основы механизма действия ОКП на простату. Мы склонны полагать, что он связан с интенсификацией

обменных процессов в простате. Как известно, сперма в значительной степени состоит из секрета простаты, который можно считать транспортной средой для сперматозоидов. Для выработки его компонентов нужна энергия, поэтому достаточно логично, что ОКП повышает скорость потребления кислорода тканью простаты. Подобных исследований в доступной литературе нами не обнаружено.

Во-вторых, менее очевидно, но предельно важно следующее. Для того чтобы обеспечить возросшее потребление кислорода, нужно, чтобы у клеток простаты имелся кислород в достаточном количестве. Однако это далеко не всегда так. Работами российских и зарубежных урологов показано, что ишемия органов малого таза, в частности, предстательной железы — это элемент патогенеза многих патологических состояний, среди которых хронический простатит, доброкачественная гиперплазия предстательной железы (ДГПЖ), синдром хронической тазовой боли [2, 3, 12, 13]. И здесь возникает дилемма: если у клеток простаты кислород имеется в достаточном количестве (нет ишемии), то эффективность ОКП будет максимальной; если ткань простаты функционирует в условиях ишемии, то эффективность препарата в отношении СНМП будет снижена вплоть до полного отсутствия. Именно с этих научных позиций мы склонны объяснять индивидуализированную эффективность препарата, варьирующую в широком диапазоне.

Отсюда может быть выведена практическая рекомендация: предварять назначение препарата пациентам углубленным исследованием факторов, которые могут быть причинами ишемии таза. Такое исследование может в себя включать, в частности, ультразвуковую доплерографию сосудов, магнитно-резонансную томографию органов малого таза с контрастированием и т. д.; это может позволить прогнозировать степень эффективности ОКП.

В данном контексте мы полагаем необходимым указать на то, что ранее подобные закономерности влияния на СПК ткань простаты были обнаружены у доксазозина и тадалафила [14, 15]. Так, показано, что $\alpha 1A$ -адреноблокатор доксазозин повышает скорость потребления кислорода тканью простаты крыс [15]. Этот фармакологический эффект доксазозина трудно считать ожидаемым и «логичным». Ведь, как известно, адренергическая система опосредует стрессовые реакции. Доксазозин — это $\alpha 1$ -адреноблокатор, поэтому логичнее было бы ожидать,

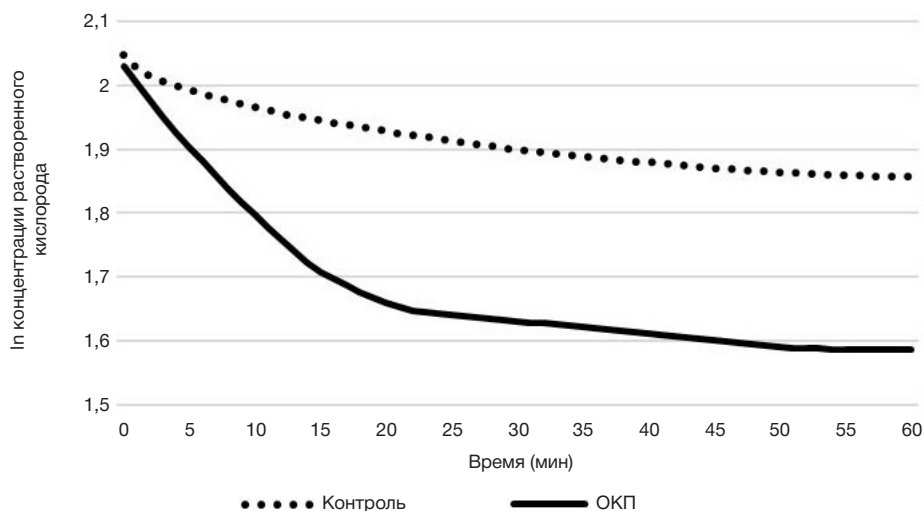


Рис. 2. Динамика потребления кислорода тканью простаты у крыс, получавших оригинальный комплекс пептидов

что он будет уменьшать скорость потребления кислорода. Поэтому тот факт, что доксазозин ее повышает, мы считаем интересным [15]. Этот феномен, по нашему мнению, может указывать на наличие у доксазозина другого механизма действия на ткань простаты, реализуемого за счет не известных еще биохимических процессов. Вместе с тем, этот возможный неизвестный механизм действия и классическое альфа¹-адреноблокирующее влияние на простату могут сосуществовать и быть объяснением того, почему действие доксазозина у пациентов с ДГПЖ и ХП индивидуально [15].

Механизм действия тадалафила на простату до сих пор считается невыясненным, потому что фермент фосфодиэстераза 5 типа в простате не содержится (в отличие от кавернозных тел полового члена, где она преобладает) [12, 13]. По этому поводу в среде урологов на протяжении нескольких лет ведутся дебаты, однако наблюдается тенденция к расширению показаний для применения тадалафила [13]. В этом контексте интересны результаты нашей работы, посвященной ОКП, которые наводят на мысль о необходимости дальнейших изысканий с целью расширения показаний для его использования.

Необходимо указать и на ограничения использованной нами экспериментальной модели. Общеизвестно, что результаты исследований на лабораторных животных могут быть экстраполированы на человека с учетом допущения о том, что в организме человека присутствуют аналогичные физико-химические закономерности диффузии кислорода в тканях. Также необходимо отметить, что подобные исследования на предстательной железе человека вряд ли могут быть проведены по этическим и юридическим причинам. Однако здесь необходимо отдать дань уважения и памяти классикам экспериментальной биологии и медицины, которые именно на животных установили те постулаты, которые сегодня являются основой подготовки каждого врача [16–19].

В течение 20–30 лет набирают также популярность публикации тех научных коллективов, которые рассматривают потребление кислорода не только как процесс, локализованный в митохондриях. Так, научная школа профессора В. П. Скулачева известна своими работами по «мембранной биоэнергетике»; один из главных постулатов заключается в том, что любая полупроницаемая мембрана является основой для конденсации энергии хотя бы за счет разности концентрации различных ионов

по обе стороны от нее. Соответственно, процесс перехода ионов через мембраны может быть источником энергии для выполнения работы [20]. Следует учесть, что наши современники развивают идеи другого светила прошлого — Вальтера Нернста. И здесь эти мысли органично, непротиворечиво сочетаются с работами профессора В. Х. Хавинсона: он постулировал принцип строгой адресности, в соответствии с которым, пептиды, полученные из определенных органов, способны взаимодействовать с белками этих же органов, хотя и других видов организмов, за счет белок–белковых контактов [21]. Эти процессы модулируют обмен веществ и потребление энергии.

Способность пептидов предстательной железы улучшать микроциркуляцию крови многие эксперты рассматривают как одну из главных детерминант их эффективности [22– 24].

ВЫВОДЫ

В ходе экспериментального исследования на белых беспородных крысах установлено, что ОКП повышает скорость потребления кислорода тканью предстательной железы, что свидетельствует об улучшении ее метаболизма и оксигенации. Экстраполяция полученных данных на организм человека позволяет объяснить механизм действия ОКП при симптомах нижних мочевых путей, ассоциированных с доброкачественной гиперплазией предстательной железы и хроническим простатитом, а также при нарушениях сперматогенеза. Можно предположить, что индивидуальная клиническая эффективность ОКП при симптомах нижних мочевых путей может быть обусловлена медико-биологическими различиями пациентов, в частности — разной степенью ишемии органов малого таза. Полагаем, что эти наши результаты способны связать воедино теорию кислородного обеспечения организма, проблемы персонализированной фармакотерапии в урологии, проблемы медико-биологических различий (а именно — разную степень ишемии органов малого таза) конкретных пациентов как причины того, почему клиническая эффективность фармакотерапии СНМП с использованием ОКП индивидуальна. Необходимы дальнейшие, в том числе клинические, исследования для подтверждения выявленных закономерностей и уточнения их практического применения.

Литература

1. Стратегия действий по реализации семейной и демографической политики, поддержке многодетности в Российской Федерации до 2036 года. Утверждена Распоряжением Правительства Российской Федерации № 615-р 15 марта 2025 г. М., 2025, 46 с.
2. Сивков А. В., Ромих В. В., Захарченко А. В. Хронический простатит категории IIIВ / синдром хронической тазовой боли и сексуальные дисфункции. Андрология и генитальная хирургия. 2015; 16 (4): 18–26.
3. Абоян И. А., Толмачев А. Н., Лемешко С. И. Морфологическая характеристика ткани гиперплазированной предстательной железы при хроническом простатите. Экспериментальная и клиническая урология. 2020; (4): 82–88. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2020-13-4-82-88>.
4. Taitt HE. Global trends and prostate cancer: a review of incidence, detection, and mortality as influenced by race, ethnicity, and geographic location. American Journal of Men's Health. 2018; 12 (6): 1807–23. DOI: 10.1177/1557988318798279.
5. Negoita S, Feuer EJ, Mariotto A, Cronin KA, Petkov VI, Hussey SK, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, part II: Recent changes in prostate cancer trends and disease characteristics. Cancer. 2018; 124 (13): 2801–14. DOI: 10.1002/cncr.31549.
6. Инструкция по применению Virtual Комплекс Пептидов ПОЛО 3 Плюс № 60, капсулы массой 0,2 г. Санкт-Петербург, 2026; 2 с.
7. Davidson A. Oxford Companion to Food. 3rd ed. Oxford University Press, 2014; 921 p.
8. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1999; 459 с.
9. Оптический датчик растворенного кислорода с термоэлектрическим преобразователем ДКТП-03. Паспорт и руководство по эксплуатации. М., 2015; 12 с.
10. Анализатор растворенного кислорода «Эксперт-009». Руководство по эксплуатации и методика поверки. М., 2019; 46 с.
11. Сергеев П. В., Шимановский Н. Л., редакторы. Биохимическая фармакология: учебное пособие. М.: МИА, 2010; 624 с.
12. Wang Y, Bao Y, Liu J. Tadalafil 5 mg once daily improves lower urinary tract symptoms and erectile dysfunction: a systematic review and meta-analysis. Lower Urinary Tract Symptoms. 2018; 10 (1): 84–92.
13. Balhara YP, Sarkar S, Gupta R. Phosphodiesterase-5 inhibitors for erectile dysfunction in patients with diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Indian Journal of Endocrinology and Metabolism. 2015; 4: 451–61.
14. Lobkarev AO. Tadalafil raises the rate of oxygen consumption by the cells of prostate. Medicus. 2017; 3: 93–98.
15. Lobkarev A, Khafizyanova R, Lobkarev O, Borovskaya T, Vyuchuzhanina A, Grigoreva V, et al. Comparative study of the influence of tadalafil and doxazosin on the rate of oxygen consumption by prostate tissue in Sprague-Dawley rats and in white outbred rats. Possible clinical consequences of unstudied pharmacological effect in men with lower urinary tract symptoms. Pharmacology Online. 2020; 1: 144–9. DOI: 10.18411/phol-2020-1-144-149.
16. Barcroft J. The respiratory function of the blood. Cambridge: Cambridge University Press, 1914; 320 p.
17. Krogh A. The respiratory exchange of animals and man. London: Longmans, Green and Co, 1916; 173 p.
18. Krogh A. The anatomy and physiology of capillaries. New Heaven: Yale University Press, 1922; 276 p.
19. Рябов Г. А. Гипоксия критических состояний. М.: Медицина, 1988; 288 с.
20. Скулачев В. П., Богачев А. В., Каспаринский Ф. О. Мембранная биоэнергетика. М.: Издательство Московского университета, 2012; 368 с.
21. Хавинсон В. Х., Трофимова С. М. Секреты долгой жизни. М.: Эксмо, 2020; 184 с.
22. Кузьмин И. В., Шабудина Н. О., Аль-Шукри С. Х. Пептиды предстательной железы в лечении больных с симптомами нижних мочевых путей вследствие доброкачественной гиперплазии предстательной железы. Эффективная фармакотерапия. 2015; 18 (2): 16–22.
23. Ткачук В. Н., Ткачук И. Н., Боровец С. Ю. Результаты 12-летнего исследования эффективности витапрост у больных хроническим простатитом. Урологические ведомости. 2016; 6 (4): 5–9. DOI: 10.17816/uroved645-9.
24. Учваткин Г. В., Татаринцева М. Б. Простатические пептиды в лечении заболеваний предстательной железы. Урологические ведомости. 2017; 7 (3): 44–48. DOI: 10.17816/uroved7344-48.

References

1. Strategiya dejstvij po realizacii semejnoi i demograficheskoj politiki, podderzhke mnogodetnosti v Rossijskoj Federacii do 2036 goda. Utverzhdena Rasporyazheniem Pravitel'stva Rossijskoj Federacii № 615-r 15 marta 2025 g. M., 2025, 46 s. Russian.
2. Sivkov AV, Romih VV, Zaharchenko AV. Hronicheskij prostatit kategorii IIIВ / sindrom hronicheskoi tazovoi boli i seksual'nye disfunkcii. Andrologiya i genital'naya hirurgiya. 2015; 16 (4): 18–26. Russian.
3. Aboyan IA, Tolmachev AN, Lemeshko SI. Morfologicheskaya harakteristika tkani giperplazirovannoi predstatel'noj zhelezy pri hronicheskom prostatite. Eksperimental'naya i klinicheskaya urologiya. 2020; (4): 82–88. Dostupno po ssylke: <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2020-13-4-82-88>. Russian.
4. Taitt HE. Global trends and prostate cancer: a review of incidence, detection, and mortality as influenced by race, ethnicity, and geographic location. American Journal of Men's Health. 2018; 12 (6): 1807–23. DOI: 10.1177/1557988318798279.
5. Negoita S, Feuer EJ, Mariotto A, Cronin KA, Petkov VI, Hussey SK, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, part II: Recent changes in prostate cancer trends and disease characteristics. Cancer. 2018; 124 (13): 2801–14. DOI: 10.1002/cncr.31549.
6. Instrukciya po primeniyu Virtual Kompleks Peptidov POLO 3 Plyus № 60, kapsuly massoj 0,2 g. Sankt-Peterburg, 2026; 2 s. Russian.
7. Davidson A. Oxford Companion to Food. 3rd ed. Oxford University Press, 2014; 921 p.
8. Glanc S. Mediko-biologicheskaya statistika. M.: Praktika, 1999; 459 s.
9. Opticheskij datchik rastvorenного kislорода s termoelektricheskim preobrazovatelem DKTP-03. Pasport i rukovodstvo po ekspluatácii. M., 2015; 12 s. Russian.
10. Analizator rastvorenного kislорода «Ekspert-009». Rukovodstvo po ekspluatácii i metodika poverki. M., 2019; 46 s. Russian.
11. Sergeev PV, Shimanovskij NL, redaktory. Biohimicheskaya farmakologiya: uchebnoe posobie. M.: MIA, 2010; 624 s. Russian.
12. Wang Y, Bao Y, Liu J. Tadalafil 5 mg once daily improves lower urinary tract symptoms and erectile dysfunction: a systematic review and meta-analysis. Lower Urinary Tract Symptoms. 2018; 10 (1): 84–92.
13. Balhara YP, Sarkar S, Gupta R. Phosphodiesterase-5 inhibitors for erectile dysfunction in patients with diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Indian Journal of Endocrinology and Metabolism. 2015; 4: 451–61.
14. Lobkarev AO. Tadalafil raises the rate of oxygen consumption by the cells of prostate. Medicus. 2017; 3: 93–98.
15. Lobkarev A, Khafizyanova R, Lobkarev O, Borovskaya T, Vyuchuzhanina A, Grigoreva V, et al. Comparative study of the influence of tadalafil and doxazosin on the rate of oxygen consumption by prostate tissue in Sprague-Dawley rats and in white outbred rats. Possible clinical consequences of unstudied pharmacological effect in men with lower urinary tract symptoms. Pharmacology Online. 2020; 1: 144–9. DOI: 10.18411/phol-2020-1-144-149.

16. Barcroft J. The respiratory function of the blood. Cambridge: Cambridge University Press, 1914; 320 p.
17. Krogh A. The respiratory exchange of animals and man. London: Longmans, Green and Co, 1916; 173 p.
18. Krogh A. The anatomy and physiology of capillaries. New Heaven: Yale University Press, 1922; 276 p.
19. Ryabov GA. Gipoksiya kriticheskikh sostoyanij. M.: Medicina, 1988; 288 s. Russian.
20. Skulachev VP, Bogachev AV, Kasparinskij FO. Membrannaya bioenergetika. M.: Izdatel'stvo Moskovskogo universiteta, 2012; 368 s. Russian.
21. Havinson VH, Trofimova SM. Sekrety dolgoj zhizni. M.: Eksmo, 2020; 184 s. Russian.
22. Kuzmin IV, SHabudina NO, Al-SHukri SH. Peptidy predstatel'noj zhelezy v lechenii bol'nyh s simptomami nizhnih mochevyh putej vsledstvie dobrokachestvennoj giperplazii predstatel'noj zhelezy. Effektivnaya farmakoterapiya. 2015; 18 (2): 16–22. Russian.
23. Tkachuk VN, Tkachuk IN, Borovec SYu. Rezul'taty 12-letnego issledovaniya effektivnosti vitaprosta u bol'nyh hronicheskim prostatitom. Urologicheskie vedomosti. 2016; 6 (4): 5–9. DOI: 10.17816/uroved645-9. Russian.
24. Uchvatkin GV, Tatarinceva MB. Prostaticheskie peptidy v lechenii zabolevanij predstatel'noj zhelezy. Urologicheskie vedomosti. 2017; 7 (3): 44–48. DOI: 10.17816/uroved7344-48. Russian.