

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

ВЕСЦІ

НАЦЫЯНАЛЬнай АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ МЕДЫЦЫНСКІХ НАВУК. 2022. Том 19, № 4

ИЗВЕСТИЯ

НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК. 2022. Том 19, № 4

Журнал основан в 2004 г.

Выходит четыре раза в год

Учредитель – Национальная академия наук Беларуси

Журнал зарегистрирован в Министерстве информации Республики Беларусь,
свидетельство о регистрации № 393 от 18 мая 2009 г.

Журнал входит в Перечень научных изданий Республики Беларусь
для опубликования результатов диссертационных исследований,
включен в международную базу данных Scopus
и в базу данных Российского индекса научного цитирования (РИНЦ)

Главный редактор

Николай Сергеевич Сердюченко –

член-корреспондент Национальной академии наук Беларуси, доктор медицинских наук, профессор

Редакционная коллегия

- О. О. Руммо** (*заместитель главного редактора*) – Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии, Минск, Республика Беларусь
- В. Г. Колосовская** (*ведущий редактор журнала*)
- Ф. И. Висмонт** – Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
- М. А. Герасименко** – Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии, Минск, Республика Беларусь
- С. В. Губкин** – Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
- Г. Л. Гуревич** – Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии, Минск, Республика Беларусь
- Ю. Е. Еременко** – Республиканский научно-практический центр оториноларингологии, Минск, Республика Беларусь
- С. Л. Кабак** – Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

- Н. П. Канунникова** – Гродненский государственный университет имени Янки Купалы, Гродно, Республика Беларусь
- С. А. Красный** – Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова, Минск, Республика Беларусь
- Н. П. Митьковская** – Республиканский научно-практический центр «Кардиология», Минск, Республика Беларусь
- А. Г. Мойсеёнок** – Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, Гродно, Республика Беларусь
- С. П. Рубникович** – Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
- И. Н. Семененя** – доктор медицинских наук, профессор
- Р. Р. Сидорович** – Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии, Минск, Республика Беларусь
- А. В. Строчкий** – Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
- Л. П. Титов** – Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Республика Беларусь

Редакционный совет

- Эдуардас Алекнавичиус** – Национальный институт рака, Вильнюс, Литовская Республика
- Ю. В. Вороненко** – Национальная медицинская академия последиplomного образования имени П. Л. Шупика, Киев, Украина
- Марк М. Ван Гулле** – Университет Лёвена, Лёвен, Королевство Бельгия
- Драган Дьюрич** – Институт медицинской физиологии Ричарда Бьюриана Университета Белграда, Белград, Республика Сербия
- Т. П. Ключник** – Научный центр психического здоровья, Москва, Российская Федерация
- В. А. Кульчицкий** – Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
- Марк-Антуан Кусто** – Анжерский университет, Анже, Французская Республика
- А. И. Мартынов** – Медицинский центр Управления делами Президента Российской Федерации, Москва, Российская Федерация
- Н. Д. Савенкова** – Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия, Санкт-Петербург, Российская Федерация
- В. И. Стародубов** – Российская академия наук, Москва, Российская Федерация
- М. В. Угрюмов** – Институт биологии развития имени Н. К. Кольцова Российской академии наук, Москва, Российская Федерация
- И. А. Чешик** – Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси, Гомель, Республика Беларусь

Адрес редакции:

ул. Академическая, 1, к. 119, 220072, г. Минск, Республика Беларусь.
Тел.: + 375 17 272-19-19; e-mail: medvesti@mail.ru.
Сайт: vestimed.belnauka.by.

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ.

Серия медицинских наук. 2022. Том 19, № 4
Выходит на русском, белорусском и английском языках

Редактор *В. Г. Колосовская*
Компьютерная верстка *Ю. А. Агейчик*

Подписано в печать 04.11.2022. Выход в свет 29.11.2022. Формат 60×84¹/₈. Бумага офсетная.
Печать цифровая. Усл. печ. л. 10,23. Уч.-изд. л. 11,3. Тираж 40 экз. Заказ 216.
Цена номера: индивидуальная подписка – 12,66 руб., ведомственная подписка – 29,74 руб.

Издатель и полиграфическое исполнение:

Республиканское унитарное предприятие «Издательский дом «Беларуская навука».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя, распространителя печатных изданий
№ 1/18 от 02.08.2013. ЛП № 02330/455 от 30.12.2013. Ул. Ф. Скорины, 40, 220084, г. Минск, Республика Беларусь

© РУП «Издательский дом «Беларуская навука»,
Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук, 2022

PROCEEDINGS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

MEDICAL SERIES, 2022, vol. 19, no. 4

The Journal was founded in 2004

Issued four times a year

Founder is the National Academy of Sciences of Belarus

The journal is registered on May 18, 2009 by the Ministry of Information of the Republic of Belarus
in the State Registry of Mass Media, reg. no. 393

The Journal is included in The List of Journals for Publication of the Results
of Dissertation Research in the Republic of Belarus, in the Scopus international database
and in the Russian Science Citation Index (RSCI) database

Editor-in-Chief

Nikolay S. Serdiuchenko – Corresponding Member of the National Academy of Sciences of Belarus,
Doctor of Medical Sciences, Professor

Editorial Board

Oleg O. Rummo (*Associate Editor-in-Chief*) – Minsk Scientific-Practical Center of Surgery, Transplantation
and Hematology, Minsk, Republic of Belarus

Valentina G. Kolosovskaya (*Managing Editor*)

Yulia E. Eremenko – Republican Center for Research and Practice in Otolaryngology, Minsk, Republic
of Belarus

Mikhail A. Gerasimenko – Republican Scientific-Practical Center of Traumatology and Orthopedics, Minsk,
Republic of Belarus

Gennady L. Gurevich – Republican Scientific and Practical Center of Pulmonology and Tuberculosis, Minsk,
Republic of Belarus

Siarhei V. Hubkin – Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic
of Belarus

Sergey L. Kabak – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Nina P. Kanunnikova – Yanka Kupala State University of Grodno, Grodno, Republic of Belarus

Siarhei A. Krasny – N. N. Alexandrov National Cancer Centre, Minsk, Republic of Belarus

Natalya P. Mitkovskaya – Republican Scientific and Practical Center “Cardiology”, Minsk, Republic of Belarus

Andrey G. Moiseenok – Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy
of Sciences of Belarus, Grodno, Republic of Belarus

Sergey P. Rubnikovich – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Igor N. Semenenya – Doctor of Medical Sciences, Professor

Ryszard R. Sidorovich – Republican Research and Practical Center of Neurology and Neurosurgery, Minsk,
Republic of Belarus

Alexander V. Strotsky – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
Leonid P. Titov – Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus
Frantishek I. Vismont – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Editorial Council

Eduardas Aleknavicius – National Cancer Institute, Vilnius, Republic of Lithuania
Igor A. Cheshik – Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Gomel, Republic of Belarus
Mark-Antoine Custaud – University of Angers, Angers, French Republic
Dragan Djuric – Richard Buryan Medical Physiology Institute of the University of Belgrade, Belgrade, Republic of Serbia
Mark M. Van Hulle – University of Leuven, Leuven, Kingdom of Belgium
Tatiana P. Klyushnik – Mental Health Research Center, Moscow, Russian Federation
Vladimir A. Kulchitsky – Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus
Anatoly I. Martynov – Medical Center of the Administration of the President of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation
Nadezhda D. Savenkova – St. Petersburg State Pediatric Medical Academy, St. Petersburg, Russian Federation
Vladimir I. Starodubov – Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation
Mikhail V. Ugryumov – Koltzov Institute of Developmental Biology of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation
Yuri V. Voronenko – National Medical Academy of Postgraduate Education named after P. L. Shupik, Kyiv, Ukraine

*Address of the Editorial Office:
1, Akademicheskaya Str., room 119, 220072, Minsk, Republic of Belarus.
Phone: +375 17 272-19-19; e-mail: medvesti@mail.ru.
Website: vestimed.belnauka.by.*

PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS.
Medical series, 2022, vol. 19, no. 4.
Printed in Russian, Belarusian and English languages

Editor *V. G. Kolosovskaya*
Computer imposition *Yu. A. Aheichyk*

It is sent of the press 04.11.2022. Appearance 29.11.2022. Format 60×84¹/₈. Offset paper. The press digital.
Printed pages 10.23. Publisher's signatures 11.3. Circulation 40 copies. Order 216.
Number price: individual subscription – 12.66 byn., departmental subscription – 29.74 byn.

Publisher and printing execution:
Republican unitary enterprise "Publishing House "Belaruskaya Navuka"
Certificate on the state registration of the publisher, manufacturer, distributor of printing editions
No. 1/18 dated August 2, 2013. License for the press No. 02330/455 dated December 30, 2013.
Address: 40, F. Skorina Str., Minsk, 220084, Republic of Belarus.

© RUE "Publishing House "Belaruskaya Navuka",
Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series, 2022

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

ЗМЕСТ

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

Колоцей Л. В., Снежицкий В. А. Гендерные особенности электрокардиограммы у пациентов с лекарственно-индуцированным синдромом удлиненного интервала QT на фоне антиаритмической терапии	351
Доронькина А. С., Михальчук А. Л., Губкин С. В., Молчанова А. Ю., Богдан В. Г. Влияние амидов жирных кислот с этаноламином и глицином на ноцицептивные реакции и параметры походки крыс в норме и при экспериментальной периферической мононейропатии.....	364
Лобанова В. В., Висмонт Ф. И. Значимость активности аргиназы печени и монооксида азота в процессах детоксикации и развития оксидативного стресса у крыс в условиях алкогольной интоксикации различной тяжести	375
Шевляков В. В., Филонюк В. А. Гигиеническая интегральная оценка степени алергоопасности условий труда работников при воздействии органических аэрозолей.....	381
Охремчук Е. В., Скоповец Е. Я., Охремчук А. Э., Кирсанова Н. П., Сидоренко А. В., Валентович Л. Н. Первый в Республике Беларусь опыт проведения трансплантации фекальной микробиоты для восстановления кишечного микробиоценоза у пациентов с онкогематологическими заболеваниями.....	391
Ерофеева А.-М. В., Молчанова А. Ю. Влияние трансплантации аллогенных мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани на ноцицептивные реакции и параметры походки крыс с экспериментальной периферической нейропатией.....	404

АГЛЯДЫ

Салимов У. Р., Стома И. О., Ковалев А. А., Шерба А. Е., Штурич И. П., Руммо О. О. Печеночно-интестинальная ось: физиология сквозь призму микробиома.....	413
Каронова Т. Л., Руденко Е. В., Радаева О. А., Черникова А. Т., Головатюк К. А., Шляхто Е. В. Обеспеченность населения витамином D в период пандемии COVID-19: опыт России и Беларуси	424

CONTENTS

CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE

Kalatsei L. V., Snezhitskiy V. A. Gender electrocardiographic features in patients with drug-induced long QT syndrome caused by antiarrhythmic therapy.....	351
Doronkina A. S., Mikhalechuk A. L., Goubkin S. V., Molchanova A. Yu., Bogdan V. G. Effects of fatty acid amides with ethanolamine and glycine on nociceptive reactions and gait parameters in rats in normal and experimental peripheral mononeuropathy	364
Lobanova V. V., Vismont F. I. Significance of the liver arginase activity and nitrogen monoxide in the detoxification processes and development of oxidative stress in rats under alcoholic intoxication of different severity.....	375
Shevlyakov V. V., Filanyuk V. A. Hygienic integral assessment of the allergy hazard degree of the working conditions for employees exposed to organic aerosols.....	381
Akhremchuk K. U., Skapavets K. Y., Akhremchuk A. E., Kirsanova N. P., Sidarenka A. V., Valentovich L. N. Initial experience of fecal microbiota transplantation in Belarus in patients with hematologic malignancies as a method for recovery of intestinal microbiocenosis.....	391
Yerofeyeva A.-M. V., Molchanova A. Yu. Impact of adipose-derived allogeneic mesenchymal stem cell transplantation on nociceptive reactions and gait parameters in rats with experimental peripheral neuropathy.....	404

REVIEWS

Salimov U. R., Stoma I. O., Kovalev A. A., Scherba A. E., Shturich I. P., Rummo O. O. Gut-liver axis: physeology through the prism of the microbiome	413
Karonova T. L., Rudenco E. V., Radaeva O. A., Chernikova A. T., Golovatyuk K. A., Shlyakhto E. V. Vitamin D status during the COVID-19 pandemic: the experience of Russia and Belarus.....	424

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА
CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE

УДК 616.12-073.97-055:[616.12-008.3-02:615.222]
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-4-351-363>

Поступила в редакцию 10.03.2022
Received 10.03.2022

Л. В. Колоцей, В. А. Снежицкий

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Республика Беларусь

**ГЕНДЕРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЭЛЕКТРОКАРДИОГРАММЫ У ПАЦИЕНТОВ
С ЛЕКАРСТВЕННО-ИНДУЦИРОВАННЫМ СИНДРОМОМ
УДЛИНЕННОГО ИНТЕРВАЛА QT НА ФОНЕ
АНТИАРИТМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ**

Аннотация. Женский пол традиционно относится к числу факторов риска удлинения интервала QT и развития полиморфной желудочковой тахикардии (ЖТ) типа «пируэт». Однако, несмотря на большое количество исследований, посвященных электрокардиографическим особенностям у пациентов с врожденным синдромом удлиненного интервала QT, имеется сравнительно немного информации о гендерных различиях показателей электрокардиограмм (ЭКГ) на фоне лекарственно-индуцированного удлинения интервала QT.

Цель настоящего исследования – оценка гендерных особенностей электрокардиографических показателей, характеризующих деполяризацию и реполяризацию миокарда, у пациентов с лекарственно-индуцированным удлинением интервала QT на фоне приема антиаритмических препаратов III класса.

Для достижения поставленной цели было обследовано 67 пациентов с лекарственно-индуцированным удлинением интервала QT на фоне приема антиаритмических препаратов III класса (амиодарон либо соталол), из них 38 (56,8 %) женщин и 29 (43,2 %) мужчин, средний возраст – $57,1 \pm 9,5$ года. Всем пациентам проводились клинико-лабораторные и неинвазивные электрофизиологические исследования, включавшие в себя запись ЭКГ в 12 отведениях и 24-часовое холтеровское мониторирование ЭКГ (ХМ-ЭКГ).

Пациенты исследуемых групп были сопоставимы по возрасту и клинико-нозологической характеристике, однако более высокая распространенность фибрилляции предсердий отмечалась у мужчин (82,7 % против 52,6 %, $p = 0,03$). Общая продолжительность приема антиаритмических препаратов III класса у пациентов мужского пола составила $3,79 \pm 1,49$ сут, что значимо отличалось от аналогичного показателя у пациенток женского пола ($3,11 \pm 1,15$ сут, $p = 0,044$). При анализе исходных показателей стандартных ЭКГ пациентов, записанных до начала приема антиаритмических препаратов, между группами не выявлено статистически достоверных различий, за исключением больших значений скорректированного индекса кардиоэлектрофизиологического баланса (QTc/QRS) у пациенток женского пола ($p = 0,037$). На фоне приема антиаритмических препаратов III класса у женщин отмечались более высокая продолжительность интервалов QTc ($p = 0,03$) и JTc ($p = 0,023$), а также дисперсия интервалов QT ($p = 0,012$) и JT ($p = 0,006$). По данным ХМ-ЭКГ, у пациенток женского пола наблюдалась тенденция к повышенному риску развития неустойчивой полиморфной ЖТ ($p = 0,105$).

Полученные результаты свидетельствуют о сложном взаимодействии между полом и реполяризацией, которое требует дальнейшего исследования. Учитывая роль гендерных особенностей в процессе реполяризации миокарда, следует соблюдать осторожность не только при назначении антиаритмических препаратов III класса женщинам, но и принимать во внимание вопросы гендерной специфичности на этапе доклинической и клинической разработки лекарственных препаратов, обладающих эффектом удлинения интервала QT.

Ключевые слова: интервал QT, лекарственно-индуцированный синдром удлиненного интервала QT, антиаритмические препараты, неустойчивая полиморфная желудочковая тахикардия, электрокардиография, реполяризация, дисперсия интервала QT, скорректированный индекс кардиоэлектрофизиологического баланса

Для цитирования: Колоцей, Л. В. Гендерные особенности электрокардиограммы у пациентов с лекарственно-индуцированным синдромом удлиненного интервала QT на фоне антиаритмической терапии / Л. В. Колоцей, В. А. Снежицкий // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2022. – Т. 19, № 4. – С. 351–363. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-4-351-363>

Liudmila V. Kalatsei, Viktor A. Snezhitskiy

*Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus***GENDER ELECTROCARDIOGRAPHIC FEATURES IN PATIENTS WITH DRUG-INDUCED LONG QT SYNDROME CAUSED BY ANTIARRHYTHMIC THERAPY**

Abstract. Female gender is traditionally considered to be a risk factor for the QT interval prolongation and polymorphic ventricular tachycardia «torsades de pointes». However, despite a large number of studies on electrocardiographic features in patients with congenital long QT interval syndrome, there is relatively little information on gender ECG differences in the drug-induced QT interval prolongation.

The aim of this study is to evaluate the gender characteristics of electrocardiographic parameters characterizing myocardial depolarization and repolarization in patients with drug-induced QT interval prolongation induced by class III antiarrhythmic drugs.

67 patients with drug-induced QT interval prolongation induced class III antiarrhythmic drugs (amiodarone or sotalol) were examined, of which 38 (56.8 %) women and 29 (43.2 %) men, mean age – 57.1 ± 9.5 years. All patients underwent clinical laboratory and non-invasive electrophysiological studies, which included 12-lead ECG recording and 24-hour Holter monitoring.

The patients of both genders were comparable in age and clinical characteristics, with the exception of a higher prevalence of AF in men (82.7 % vs 52.6 %, $p = 0.03$). The total duration of taking class III antiarrhythmic drugs in male patients was 3.79 ± 1.49 days, which significantly differed from female patients (3.11 ± 1.15 days, $p = 0.044$). When analyzing the initial standard ECG of patients recorded before starting antiarrhythmic drugs, there were no statistically significant differences between the groups, with the exception of large values of the corrected cardioelectrophysiological balance index (QTc/QRS) in female patients ($p = 0.037$). While taking class III antiarrhythmic drugs, women had a higher duration of QTc ($p = 0.03$) and JTc ($p = 0.023$) intervals, as well as a dispersion of QT ($p = 0.012$) and JT ($p = 0.006$) intervals. According to Holter monitoring data, female patients were more likely to have an increased risk of developing non-sustained polymorphic VT ($p = 0.105$).

These results suggest a complex interplay between gender and repolarization that needs further investigation. Considering the gender characteristics of the process of myocardial repolarization, it should be taken into account not only when prescribing class III antiarrhythmic drugs to women, but also during preclinical and clinical development of drugs that have the QT interval prolonging effect.

Keywords: QT interval, drug-induced long QT syndrome, antiarrhythmic drugs, non-sustained polymorphic ventricular tachycardia, electrocardiography, repolarization, QT interval dispersion, corrected index of cardioelectrophysiological balance

For citation: Kalatsei L. V., Snezhitskiy V. A. Gender electrocardiographic features in patients with drug-induced long QT syndrome caused by antiarrhythmic therapy. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2022, vol. 19, no. 4, pp. 351–363 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-4-351-363>

Введение. Наличие различий между электрокардиограммами (ЭКГ) мужчин и женщин было впервые отмечено более 100 лет назад в работах Г. Базетта [1]. С тех пор было установлено, что по сравнению с мужчинами у женщин отмечаются меньшая продолжительность интервала PQ и комплекса QRS, более низкий вольтаж зубцов ЭКГ, большая лабильность сегмента ST и, в особенности, большая продолжительность интервала QT [2–6].

Продолжительность скорректированного интервала QT (QTc) в покое у здоровых женщин примерно на 10–20 мс больше, чем у мужчин [3, 6, 7]. Хотя большинство исследований, посвященных данному вопросу, было проведено с использованием формулы Базетта, которая еще более увеличивает эту разницу из-за более высокой частоты сердечных сокращений (ЧСС) у женщин в состоянии покоя, гендерные особенности сохраняются независимо от формулы, с помощью которой осуществляется расчет QTc [3]. Разница в продолжительности интервала QT возникает в подростковом возрасте, когда у мальчиков проявляется эффект тестостерона, ускоряющий ток калия через быстрые калиевые каналы и укорачивающий интервал QT, в то время как у девочек его продолжительность остается без изменений. Данная разница варьируется от 12–15 мс у молодых людей, уменьшается до 6–10 мс в старших возрастных группах и практически исчезает в пожилом возрасте, что позволяет предполагать существенное влияние половых гормонов на процесс реполяризации миокарда желудочков сердца [8–10].

Женский пол традиционно относится к факторам не только риска удлинения интервала QT, но и развития лекарственно-индуцированных жизнеугрожающих желудочковых нарушений ритма [3, 7, 8]. Так, по различным данным, желудочковая тахикардия (ЖТ) типа «пируэт» на фоне удлиненного интервала QT в 2–3 раза чаще регистрируется у пациенток женского пола как с врожденным, так и с приобретенным синдромом удлиненного интервала QT [8, 11, 12].

Однако, несмотря на большое количество исследований, посвященных электрокардиографическим особенностям у здоровых мужчин и женщин, а также у пациентов с врожденным синдромом удлиненного интервала (СУИ) QT, имеется сравнительно немного информации о гендерных особенностях ЭКГ на фоне лекарственно-индуцированного удлинения интервала QT. Интерес представляют не только гендерные различия показателей продолжительности реполяризации (интервал QT) у данной категории пациентов, но и особенности ее гетерогенности (дисперсия интервала QT), а также трансмуральной дисперсии реполяризации (продолжительность интервала $T_{\text{peak}}-T_{\text{end}}$ и его дисперсия, соотношение интервалов $T_{\text{peak}}-T_{\text{end}}/QT$). Кроме того, с учетом большей длительности интервала QT и меньшей длительности комплекса QRS у женщин особое внимание представляют различия в соотношении процессов деполяризации и реполяризации миокарда, математически выражаемого в виде индекса кардиоэлектрофизиологического баланса (QT/QRS), который рассматривается в качестве одного из потенциальных предикторов возникновения полиморфных желудочковых нарушений ритма [13, 14].

Цель настоящего исследования – оценка гендерных особенностей электрокардиографических показателей, характеризующих деполяризацию и реполяризацию миокарда желудочков сердца, у пациентов с наличием лекарственно-индуцированного удлинения интервала QT на фоне приема антиаритмических препаратов III класса.

Материалы и методы исследования. Для достижения поставленной цели на базе УЗ «Гродненский областной клинический кардиологический центр» было обследовано 67 пациентов (38 (56,8 %) женщин и 29 (43,2 %) мужчин, средний возраст – $57,1 \pm 9,5$ года), преимущественно с ишемической болезнью сердца (ИБС), артериальной гипертензией (АГ) и нарушениями ритма сердца. У всех включенных в исследование пациентов отмечалось лекарственно-индуцированное удлинение скорректированного интервала QT (Bazett) (свыше 450 мс у мужчин и свыше 470 мс у женщин) на фоне приема антиаритмических препаратов III класса (амиодарона либо соталола).

Критериями исключения из исследования были: генотипированный врожденный СУИ QT; оценка по шкале Шварца более 3 баллов; прием любых лекарственных средств кроме антиаритмических препаратов III класса с подтвержденным либо вероятным риском ЖТ типа «пируэт», внесенных в базу CredibleMeds [15]; недавний острый инфаркт миокарда, аортокоронарное шунтирование или коронарная ангиопластика (менее чем за 3 мес. до включения в исследование); гипертрофия левого желудочка (индекс Соколова–Лайона > 35 мм); увеличение продолжительности комплекса QRS ≥ 100 мс; постоянная и длительно персистирующая форма фибрилляции предсердий (ФП); 24 ч после восстановления синусового ритма у пациентов с ФП; нарушения атриовентрикулярного проведения; некорректированная патология эндокринной системы (гипертиреоз, гипотиреоз, гиперпаратиреоз); патология нервной системы (субарахноидальное кровоизлияние, травма, инфекции, опухоли); декомпенсированный сахарный диабет; активный воспалительный процесс любой локализации инфекционной, аутоиммунной или другой этиологии.

Всем пациентам проводились клинико-лабораторные и инструментальные исследования, включавшие в себя сбор анамнеза, физикальные исследования, эхокардиографическое исследование (ЭхоКГ), запись ЭКГ в 12 отведениях, 24-часовое холтеровское мониторирование (ХМ-ЭКГ), общеклинические лабораторные исследования.

Для проведения ЭхоКГ использовали ультразвуковой аппарат Philips IE-33 (PureWave, Голландия). Исследование выполняли из стандартных ЭхоКГ позиций с определением показателей внутрисердечной гемодинамики (размеров полостей сердца, фракции выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ), индекса массы миокарда левого желудочка (ИММЛЖ)).

При проведении ЭКГ использовали 12-канальный цифровой компьютерный электрокардиограф «Интекард-3» для регистрации и анализа ЭКГ в покое («Кардиан», Республика Беларусь). ЭКГ были стандартизированы при нормальной скорости (50 мм/с) с амплитудой 10 мм/мВ. Продолжительность зубцов и интервалов определяли вручную по 12 отведениям стандартной ЭКГ, с записью не менее пяти полных сердечных циклов. Расчет скорректированного интервала QT осуществляли по формуле Базетта. Скорректированный интервал QT считали удлиненным при значении более 450 мс у мужчин и более 470 мс у женщин.

ХМ-ЭКГ проводили с помощью системы «Кардиотехника-04-8» («Инкарт», Санкт-Петербург) для регистрации нарушений ритма и проводимости, возникающих на фоне приема антиаритмических препаратов III класса.

Статистический анализ выполняли с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 10.0 с предварительной проверкой на нормальность распределения с помощью гистограммы распределения. Количественные данные, распределение которых не являлось нормальным, приведены в виде медианы, 25 %-ного и 75 %-ного квартилей. Поскольку большинство количественных признаков не подчинялось закону нормального распределения, при сравнении использовали непараметрические методы. Для оценки различий количественных признаков между двумя независимыми группами применяли критерий Манна–Уитни. При уровне значимости $p < 0,05$ считали, что исследуемый показатель в сравниваемых группах имеет статистически значимые различия.

Исследование выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинской декларации. До включения в исследование у всех участников было получено письменное информированное согласие.

Результаты исследования. Пациенты, включенные в исследование, были разделены на две группы в соответствии с их полом. В первую группу вошли 29 (43,2 %) мужчин, во вторую – 38 (56,8 %) женщин.

Сравнительная клиничко-лабораторная характеристика и особенности фармакологического анамнеза пациентов мужского и женского пола с лекарственно-индуцированным удлинением интервала QT представлена в табл. 1.

Таблица 1. Клиничко-лабораторная характеристика и особенности фармакологического анамнеза пациентов мужского и женского пола с лекарственно-индуцированным удлинением интервала QT

Table 1. Clinical and laboratory characteristics and pharmacological history of the men and women with drug-induced QT prolongation

Параметр	Мужчины ($n = 29$)	Женщины ($n = 38$)	P_{1-2}
<i>Клиничко-анамнестические параметры</i>			
Возраст, лет ($M \pm SD$)	57,1 \pm 8,9	55,7 \pm 11,6	0,971
ИМТ, кг/м ² ($M \pm SD$)	30,3 \pm 3,9	29,6 \pm 5,1	0,396
Курение, n	11 (37,9 %)	2 (5,3 %)	0,002
Артериальная гипертензия, n	27 (93,1 %)	31 (81,2 %)	0,405
Ишемическая болезнь сердца, n	27 (93,1 %)	31 (81,2 %)	0,405
Инфаркт миокарда в анамнезе, n	7 (24,1 %)	3 (7,9 %)	0,132
Фибрилляция предсердий, n	24 (82,7 %)	20 (52,6 %)	0,027
Пароксизмальная форма ФП, n	9 (32,1 %)	12 (31,6 %)	0,838
Персистирующая форма ФП, n	15 (51,7 %)	8 (21,1 %)	0,031
ХСН со сниженной ФВ ЛЖ, n	5 (17,2 %)	4 (10,5 %)	0,625
Ожирение, n	14 (48,3 %)	14 (36,8 %)	0,471
Сахарный диабет II типа, n	5 (17,2 %)	1 (2,6 %)	0,100
Наличие эпизодов мономорфной ЖТ в анамнезе, n	8 (27,6 %)	11 (28,9 %)	0,818
Частая ЖЭС, n	9 (32,1 %)	15 (39,5 %)	0,571
Частая НЖЭС, n	0 (0 %)	7 (18,4 %)	0,192
<i>Особенности фармакологического анамнеза</i>			
Общее количество принимаемых ЛС, n	7,76 (7; 9)	7,02 (6; 9)	0,461
Прием двух и более препаратов, удлиняющих интервал QT, n	10 (34,5 %)	15 (39,5 %)	0,657
Доля принимаемых ЛС, удлиняющих интервал QT, в общей структуре, %	17,9 (12; 22)	25,2 (14; 28)	0,119
Бета-адреноблокаторы (за исключением соталола), n	23 (79,3 %)	18 (47,4 %)	0,012

Окончание табл. 1

Параметр	Мужчины (n = 29)	Женщины (n = 38)	P_{1-2}
Ингибиторы АПФ, n	18 (62,1 %)	24 (63,1 %)	0,943
Блокаторы рецепторов ангиотензина II, n	8 (27,6 %)	8 (21,1 %)	0,637
Статины, n	27 (93,1 %)	31 (81,2 %)	0,405
Антиагреганты, n	9 (31 %)	16 (42,1 %)	0,438
Антикоагулянты, n	23 (79,3 %)	20 (52,6 %)	0,058
Амиодарон, n	24 (82,7 %)	20 (52,6 %)	0,027
Среднесуточная дозировка амиодарона, мг	322,9 (200; 405)	311,4 (200; 453)	0,684
Соталол, n	5 (17,2 %)	18 (47,4 %)	0,027
Среднесуточная дозировка соталола, мг	160 (160; 160)	134 (80; 160)	0,368
Диуретик, n	8 (27,6 %)	14 (36,8 %)	0,475
Петлевой диуретик, n	2 (6,9 %)	7 (18,4 %)	0,293
Тиазидный диуретик, n	6 (20,7 %)	7 (18,4 %)	0,895
<i>Лабораторные данные</i>			
Креатинин, мкмоль/л	93,3 (83; 104)	88,2 (75; 94)	0,052
Общий холестерин, ммоль/л	4,65 (3,7; 5,3)	5,16 (4,1; 6,2)	0,173
Калий, ммоль/л	4,36 (4,1; 4,7)	4,21 (4; 4,4)	0,203
Натрий, ммоль/л	143,3 (141; 145)	143,7 (142; 145)	0,182
Кальций, ммоль/л	2,24 (2; 2,4)	2,27 (2,1; 2,4)	0,366
Магний, ммоль/л	0,83 (0,76; 0,89)	0,79 (0,73; 0,84)	0,444
Хлориды, ммоль/л	104,4 (103; 106)	105,5 (104; 107)	0,684
ТТГ, МЕ/мл	1,88 (1,2; 2,5)	2,14 (1,4; 2,4)	0,244
Т3 св., нмоль/л	5,13 (4,4; 5,5)	5,51 (4,6; 6)	0,098
Т4 св., пмоль/л	15,84 (13,8; 18,4)	15,93 (13; 18,7)	0,942

Примечание. ИМТ – индекс массы тела; ЖТ – желудочковая тахикардия; ХСН – хроническая сердечная недостаточность; ФВЛЖ – фракция выброса левого желудочка; ЖЭС – желудочковая экстрасистолия; НЖЭС – наджелудочковая экстрасистолия; ЛС – лекарственное средство; АПФ – ангиотензинпревращающий фермент; ТТГ – тиреотропный гормон; Т3 – трийодтиронин; Т4 – тироксин.

Пациенты исследуемых групп были сопоставимы по возрасту и клинико-нозологической характеристике (наличие АГ, ИБС, пароксизмы мономорфной ЖТ, частые ЖЭС и НЖЭС, а также ХСН со сниженной ФВ ЛЖ). Среди пациентов мужского пола достоверно чаще встречалась ФП (82,7 % против 52,6 %, $p = 0,027$), причем у мужчин, включенных в исследование, отмечалась преимущественно персистирующая форма, в то время как у женщин преобладала пароксизмальная. Кроме того, среди мужчин было больше курильщиков ($p = 0,002$), а также в 2 раза больше пациентов, перенесших инфаркт миокарда, однако эти различия не достигали уровня статистической значимости ($p = 0,132$).

Пациенты были сопоставимы по общему количеству принимаемых лекарственных препаратов, в том числе с риском удлинения интервала QT. Следует отметить, что среди пациенток женского пола отмечалась тенденция к более высокому проценту принимаемых ЛС, удлиняющих интервал QT, в общей структуре принимаемых лекарственных препаратов (25,2 % против 17,9 %, $p = 0,117$).

Все включенные в исследование пациенты с ИБС, АГ и ХСН получали оптимальную медикаментозную терапию. Из антиаритмических препаратов III класса мужчины достоверно чаще получали амиодарон (82,7 % против 52,6 %, $p = 0,027$), в то время как женщины – соталол (17,2 % против 47,4 %, $p = 0,027$). Этим можно объяснить различия в частоте приема других бета-блокаторов (за исключением соталола), которая была значимо выше в группе пациентов мужского пола (79,3 % против 47,4 %, $p = 0,012$).

При оценке лабораторных показателей обращало на себя внимание отсутствие достоверных межгрупповых различий в содержании электролитов (калий, натрий, магний, кальций и хлориды)

сыворотки крови. Однако следует отметить, что среди пациенток женского пола в 2 раза чаще встречалась гипокалиемия (4 (10,5 %) женщины против 2 (6,9 %) мужчин, $p = 0,698$) и в 3 раза чаще – гипомагниемия (12 (31,5 %) женщин против 4 (13,8 %) мужчин, $p = 0,160$). Уровни гормонов щитовидной железы у исследуемых пациентов были сопоставимы между собой и находились в пределах референсных значений (табл. 1).

Сравнительный анализ эхокардиографических показателей в исследуемых группах пациентов представлен в табл. 2. Так, у пациентов мужского пола отмечались большие значения размеров ЛЖ ($p = 0,002$), толщины стенок миокарда ЛЖ ($p < 0,01$) и ИММЛЖ ($p = 0,011$). Пациенты обеих групп были сопоставимы по показателям ФВ ЛЖ ($p = 0,127$).

Т а б л и ц а 2. Эхокардиографические показатели пациентов исследуемых групп (Me (25 %; 75 %))

Table 2. Echocardiographic parameters of the patients of the studied groups (Me (25 %; 75 %))

Параметр	Мужчины ($n = 29$)	Женщины ($n = 38$)	$P_{1,2}$
Передне-задний размер ЛП, мм	40,7 (38; 44)	38,8 (36; 40)	0,054
Конечно-диастолический размер ЛЖ, мм	55,8 (52; 57)	51 (47; 54)	0,002
Конечно-систолический размер ЛЖ, мм	38,7 (34; 39)	34,1 (31; 36)	0,002
ФВ ЛЖ (М-режим), %	58,1 (53; 66)	60,9 (58; 66)	0,127
МЖПд, мм	14,2 (13; 16)	11,9 (11; 13)	0,0001
МЖПс, мм	18,1 (17; 20)	15,4 (14; 17)	0,0001
ЗСЛЖд, мм	12,6 (11; 14)	11,2 (10; 12)	0,004
ЗСЛЖс, мм	17,8 (15; 20)	16,1 (15; 17)	0,013
ИММЛЖ, г/м ²	106,6 (85,7; 122,7)	86,9 (72,5; 99,2)	0,011

П р и м е ч а н и е. ЛП – левое предсердие, ЛЖ – левый желудочек, ФВ – фракция выброса, МЖПд – толщина межжелудочковой перегородки в диастолу, МЖПс – толщина межжелудочковой перегородки в систолу, ЗСЛЖд – толщина задней стенки ЛЖ в диастолу, ИММЛЖ – индекс массы миокарда левого желудочка.

При анализе исходных стандартных ЭКГ пациентов, записанных до начала приема антиаритмических препаратов (табл. 3), между исследуемыми группами пациентов не было выявлено статистически достоверных различий, за исключением больших значений скорректированного индекса кардиоэлектрофизиологического баланса (отношение продолжительности интервала QTc к комплексу QRS) у пациенток женского пола ($p = 0,037$). Природу данных различий можно объяснить тенденцией к большей продолжительности комплекса QRS у мужчин (88,6 мс против 85,5 мс у женщин, $p = 0,081$) и, напротив, большей продолжительностью интервала QTc у женщин (403 мс против 394 мс у мужчин, $p = 0,057$), однако не достигшей статистически значимых значений. Межгрупповая разница медианных значений продолжительности интервала QTc составила 9 мс, а скорректированного интервала JT (JTc) – 12 мс. Значения показателей, характеризующих трансмуральную дисперсию реполяризации (продолжительность интервала $T_{peak} - T_{end}$, его дисперсия и отношение к интервалу QT) у исследуемых пациентов были сопоставимы, с небольшим преобладанием значений у пациентов мужского пола, несмотря на меньшую продолжительность интервала QTc у данной категории пациентов. Значения показателей гетерогенности реполяризации (дисперсия интервалов QT и JT) также были сопоставимы, с небольшим преобладанием у женщин (разница медианных значений дисперсии интервала QT – 3,2 мс, дисперсии интервала JT – 4 мс).

Общая продолжительность приема антиаритмической терапии III класса у пациентов мужского пола составила $3,79 \pm 1,49$ сут, что значительно отличалось от показателей у пациенток женского пола ($3,11 \pm 1,15$ сут, $p = 0,044$). Среднесуточные дозировки употребляемых антиаритмических препаратов между исследуемыми группами пациентов были сопоставимы (см. табл. 1).

Значения электрокардиографических показателей, зарегистрированные у пациентов обеих групп на фоне приема антиаритмических препаратов III класса, представлены в табл. 4.

Согласно результатам статистического анализа, у пациенток женского пола отмечалась достоверно большая продолжительность интервалов QTc ($p = 0,03$) и JTc ($p = 0,023$). Межгрупповая

разница медианных значений продолжительности интервала QTc составила 19 мс, а интервала JTc – 20,4 мс. Значения показателей баланса деполяризации и реполяризации миокарда желудочков (QT/QRS и QTc/QRS) в обеих группах имели тенденцию к более высоким значениям у пациенток женского пола, не достигшую, однако, критериев статистической значимости, что можно объяснить более выраженным увеличением продолжительности комплекса QRS под влиянием антиаритмической терапии у женщин по сравнению с мужчинами.

Т а б л и ц а 3. Электрокардиографические показатели пациентов до начала приема антиаритмической терапии (Me (25 %; 75 %))

Table 3. Electrocardiographic parameters before antiarrhythmic therapy initiation (Me (25 %; 75 %))

Параметр	Мужчины (n = 29)	Женщины (n = 38)	P_{1-2}
Средняя ЧСС, уд/мин	63,3 (57; 70)	61,9 (56; 67)	0,436
Продолжительность зубца Р, мс	101 (90; 110)	93 (80; 100)	0,190
Продолжительность интервала PQ, мс	151 (130; 170)	140 (130; 160)	0,099
<i>Показатели реполяризации миокарда желудочков</i>			
Продолжительность интервала QT, мс	392 (370; 420)	395 (380; 410)	0,771
Продолжительность интервала QTc (Bazett), мс	394 (383; 408)	403 (394; 410)	0,057
Дисперсия интервала QT, мс	32,5 (20; 39)	35,7 (28; 44)	0,241
Продолжительность интервала JTc (Bazett), мс	307 (301; 327)	319 (304; 333)	0,222
Дисперсия интервала JT, мс	28,4 (24; 36)	32,4 (25; 40)	0,633
Продолжительность интервала $T_{peak}-T_{end}$, мс	77,9 (67; 83)	76,1 (67; 86)	0,494
Дисперсия интервала $T_{peak}-T_{end}$	20,3 (10; 30)	18,2 (10; 20)	0,428
Соотношение интервала $T_{peak}-T_{end}/QT$	0,19 (0,18; 0,2)	0,19 (0,18; 0,2)	0,265
<i>Показатели деполяризации миокарда желудочков</i>			
Продолжительность комплекса QRS, мс	88,6 (80; 90)	85,5 (80; 90)	0,081
Фрагментация комплекса QRS, n (%)	3 (10,3 %)	6 (15,8 %)	0,567
<i>Показатели баланса деполяризации и реполяризации миокарда желудочков</i>			
Индекс кардиоэлектрофизиологического баланса (QT/QRS)	4,64 (4,3; 4,89)	4,76 (4,18; 5,15)	0,212
Корригированный индекс кардиоэлектрофизиологического баланса (QTc/QRS)	4,61 (4,36; 4,75)	4,85 (4,5; 5,1)	0,037

П р и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 4, 5: ЧСС – частота сердечных сокращений, QTc – корригированный интервал QT, JTc – корригированный интервал JT.

Т а б л и ц а 4. Электрокардиографические показатели пациентов на фоне приема антиаритмической терапии (Me (25 %; 75 %))

Table 4. Electrocardiographic parameters while taking antiarrhythmic therapy (Me (25 %; 75 %))

Параметр	Мужчины (n = 29)	Женщины (n = 38)	P_{1-2}
Средняя ЧСС, уд/мин	65,2 (58; 69)	64,3 (58; 69)	0,959
Продолжительность зубца Р, мс	104 (90; 110)	94 (90; 110)	0,418
Продолжительность интервала PQ, мс	170 (160; 180)	165 (150; 180)	0,143
<i>Показатели реполяризации миокарда желудочков</i>			
Продолжительность интервала QT, мс	460,8 (452; 477)	477,4 (447; 489)	0,147
Продолжительность интервала QTc (Bazett), мс	474,8 (457; 489)	493,8 (466; 501)	0,030
Дисперсия интервала QT, мс	66 (53; 79)	79,2 (66; 88)	0,012
Продолжительность интервала JTc (Bazett), мс	390,1 (374; 404)	410,5 (384; 424)	0,023
Дисперсия интервала JT, мс	61,3 (50; 74)	74,1 (62; 82)	0,006

Параметр	Мужчины ($n = 29$)	Женщины ($n = 38$)	P_{1-2}
Продолжительность интервала $T_{\text{peak}}-T_{\text{end}}$, мс	126,1 (113; 137)	125 (113; 137)	0,949
Дисперсия интервала $T_{\text{peak}}-T_{\text{end}}$	33,1 (30; 40)	32,4 (30; 40)	0,483
Соотношение интервала $T_{\text{peak}}-T_{\text{end}}/QT$	0,27 (0,25; 0,29)	0,27 (0,26; 0,28)	0,329

Показатели деполаризации миокарда желудочков

Продолжительность комплекса QRS, мс	89,1 (80; 90)	88,2 (80; 90)	0,634
Фрагментация комплекса QRS, n	4 (13,8 %)	10 (26,3 %)	0,344

Показатели баланса деполаризации и реполаризации миокарда желудочков

Индекс кардиоэлектрофизиологического баланса (QT/QTc)	5,65 (5,22; 6)	5,78 (5,33; 6,27)	0,172
Корригированный индекс кардиоэлектрофизиологического баланса (QTc/QTc)	5,68 (5,22; 5,99)	5,77 (5,22; 6,28)	0,221

Следует отметить, что на фоне приема антиаритмической терапии у пациенток женского пола были отмечены более высокие цифры дисперсии интервала QT (79,2 мс против 66 мс, $p = 0,012$) и интервала JT (74,1 мс против 61,3 мс, $p = 0,006$).

Значения показателей, характеризующих деполаризацию миокарда желудочков, у исследуемых пациентов были сопоставимы. Фрагментация комплекса QRS в 2 раза чаще встречалась у женщин по сравнению с мужчинами (26,8 % против 13,8 %), что, однако, не носило статистически значимого характера. Показатели, характеризующие трансмуральную дисперсию реполаризации, в обеих группах не имели статистически значимых различий.

Учитывая статистически значимые различия в приеме антиаритмических препаратов III класса ($p = 0,027$), нами был проведен сравнительный анализ значений электрокардиографических показателей в подгруппах пациентов, принимающих амиодарон и соталол. При этом у женщин, принимающих амиодарон, были выявлены достоверно бóльшая продолжительность интервалов QTc и JTc, а также дисперсии интервалов QT и JT ($p < 0,05$) по сравнению с мужчинами. Различий в продолжительности комплекса QRS, наличии фрагментации комплекса QRS, а также продолжительности и дисперсии интервалов $T_{\text{peak}}-T_{\text{end}}$ не выявлено. У пациентов, принимавших соталол, были выявлены изменения, однонаправленные с изменениями у пациентов, принимавших амиодарон. При этом изучаемые показатели ЭКГ у пациентов, принимавших амиодарон и соталол, статистически значимо не различались между собой как среди мужчин, так и среди женщин, поэтому дальнейший статистический анализ проводился в объединенных группах.

По данным 24-часового ХМ-ЭКГ, на фоне приема антиаритмической терапии среди пациентов с лекарственно-индуцированным СУИ QT было выявлено 17 пациентов с неустойчивой полиморфной ЖТ и 5 пациентов с неустойчивой мономорфной ЖТ. Гендерная характеристика данных пациентов представлена в табл. 5.

Т а б л и ц а 5. Характеристика желудочковых нарушений ритма у пациентов исследуемых групп (Me (25 %; 75 %))

Table 5. Characteristics of ventricular arrhythmias in the patients of the studied groups (Me (25 %; 75 %))

Параметр	Мужчины	Женщины	P_{1-2}
Лекарственно-индуцированная полиморфная ЖТ, n	4 (13,8 %)	13 (34,2 %)	0,105
Причинное ЛС	Амиодарон, n	8 (61,5 %)	0,774
	Соталол, n	5 (38,5 %)	0,688
Длительность эпизода полиморфной ЖТ, мс	8002 (3195; 11582)	5439 (2230; 6000)	0,428
Среднее количество эпизодов полиморфной ЖТ за сутки, n	3,55 (1; 7)	3,23 (1; 5)	0,734
Средняя ЧСС полиморфной ЖТ, уд/мин	235 (225; 248)	234 (209; 253)	0,865
Лекарственно-индуцированная мономорфная ЖТ, n	3 (10,3 %)	2 (5,3 %)	0,525

Параметр		Мужчины	Женщины	$p_{1,2}$
Причинное ЛС	Амиодарон, n	3 (100 %)	2 (100 %)	–
	Соталол, n	0 (0 %)	0 (0 %)	–
Средняя длительность эпизода мономорфной ЖТ, мс		1623 (1380; 1795)	2410 (1815; 3005)	0,466
Среднее количество эпизодов мономорфной ЖТ за сутки, n		3,7 (2; 5)	1 (1; 1)	0,248
Средняя ЧСС мономорфной ЖТ, уд/мин		157 (140; 168)	177 (170; 185)	0,486

Таким образом, из табл. 5 следует, что у женщин наблюдалась тенденция к повышенному риску развития неустойчивой полиморфной ЖТ ($p = 0,105$). Мономорфная ЖТ, напротив, была более характерна для мужчин, однако полученные результаты не достигали критериев статистической значимости. При этом у мужчин регистрировалось несколько бóльшая продолжительность одного эпизода полиморфной ЖТ, чем у женщин (8002 мс против 5439 мс, $p = 0,428$). Остальные характеристики желудочковых нарушений ритма в обеих группах пациентов были сопоставимы. Следует отметить, что неустойчивая полиморфная ЖТ регистрировалась на фоне приема как амиодарона, так и соталола, в то время как эпизоды мономорфной ЖТ были отмечены только у пациентов, принимавших амиодарон.

Обсуждение. Гендерные особенности функционирования клеточных ионных каналов и трансмембранных ионных токов обуславливают различия в конфигурации потенциала действия, что в свою очередь порождает различия между мужчинами и женщинами в морфологии ЭКГ [3, 6]. Хотя эти особенности частично объясняются действием половых гормонов, значительную роль могут играть и другие факторы, включающие генетическую предрасположенность, анатомические различия, особенности гемодинамики и вегетативного тонуса.

Так, для женщин характерны узкие и высокие зубцы Р, более короткие интервалы PQ и комплексы QRS, более низкий вольтаж зубцов ЭКГ, большая лабильность сегмента ST и бóльшая продолжительность скорректированного интервала QT. Эти различия были выявлены во всех этнических и возрастных группах [3, 5, 6]. В недавнем исследовании Z. Attia с соавт. алгоритмы искусственного интеллекта, примененные к стандартной ЭКГ в 12 отведениях, доказали свою способность идентифицировать пол пациента с точностью более 90 % [16].

Преыдушие работы были сконцентрированы преимущественно на оценке гендерных различий ЭКГ здоровых лиц, в то время как наше исследование было посвящено оценке различий ЭКГ параметров на фоне лекарственно-индуцированного удлинения интервала QT. Так, наше исследование показало, что меньшая продолжительность зубцов Р, интервалов PQ и комплексов QRS характерна для пациенток женского пола как до назначения антиаритмической терапии, так и на фоне лекарственно-индуцированного удлинения интервала QT. Несколько меньшая разница между пациентами в продолжительности комплекса QRS на фоне приема антиаритмических препаратов III класса может быть обусловлена их влиянием как на процесс реполяризации, так и на процесс деполяризации миокарда желудочков.

На фоне приема антиаритмической терапии у пациенток женского пола отмечались достоверно бóльшая продолжительность интервалов QTc ($p = 0,03$) и JTc ($p = 0,023$), а также дисперсии интервалов QT ($p = 0,01$) и JT ($p = 0,006$). Следует отметить, что до назначения антиаритмиков у женщин наблюдалась бóльшая продолжительность интервалов QTc и JTc, однако данные различия не носили статистически значимого характера, а дисперсия интервалов QT и JT между группами была сопоставима. Полученные нами данные согласуются с результатами исследования S. Conrath с соавт., установившими, что у женщин с врожденным СУИ QT дисперсия интервала QT выше, чем у мужчин ($62 \pm 3,7$ мс против $53 \pm 9,5$ мс, $p < 0,01$) [17].

Эти данные подтверждаются и исследованиями, проведенными на животных. Так, половые различия, характерные для распределения калиевых каналов в сердцах собак, приводили к повышенной гетерогенности реполяризации желудочков и увеличению дисперсии интервала QT у самок, что делало их более восприимчивыми к желудочковым аритмиям [18]. Гендерные различия также влияют на функцию кальциевых каналов L-типа: в желудочках самок собак наблю-

далось более высокое содержание ионов кальция, чем в желудочках самцов. Заметная разница в предрасположенности к развитию желудочковых нарушений ритма отмечалась и у самок кроликов по сравнению с самцами, а ранние постдеполяризации, которые запускали ЖТ типа «пируэт», были вызваны более быстрым высвобождением Ca^{2+} из саркоплазматического ретикулума [19, 20].

Кроме того, нами впервые установлено наличие гендерных различий в продолжительности скорректированного индекса кардиоэлектрофизиологического баланса ($p = 0,037$). Учитывая меньшую продолжительность комплекса QRS и большую продолжительность интервала скорректированного QT у женщин, можно сделать вывод, что баланс между деполяризацией и реполяризацией у пациенток женского пола более выражено смещен в сторону преобладания реполяризации.

Ряд предыдущих исследований подтверждает, что пациентки женского пола склонны не только к большей продолжительности скорректированного интервала QT в покое, но и к более выраженному удлинению интервала QT в ответ на прием лекарственных препаратов, а также к развитию лекарственно-индуцированной полиморфной ЖТ типа «пируэт» [8, 11, 21–24].

Впервые эта связь была отмечена в 1993 г. в мета-анализе проаритмогенных побочных эффектов антиаритмических препаратов, главным образом хинидина [21]. Из 332 случаев ЖТ типа «пируэт», описанных в 93 наблюдениях, доля женщин составила 70 %. Полученные результаты были подтверждены M. Lehmann с соавт., установившими, что женщины более склонны (около 2/3 случаев), чем мужчины, к развитию полиморфной ЖТ при приеме терапевтических доз соталола [22]. Аналогичное соотношение (2/3 случаев ЖТ типа «пируэт» у пациенток женского пола) было описано при применении некардиальных лекарственных препаратов, удлиняющих интервал QT: антибиотика эритромицина и антималярийного препарата галофантрина [23, 24]. В нашем исследовании из 17 пациентов с неустойчивой полиморфной ЖТ 76 % (13 человек) составляли женщины, что согласуется с представленными выше результатами.

Природа данных особенностей обусловлена совокупностью анатомических, структурно-функциональных, гормональных, вегетативных и генетических факторов. Кроме большей продолжительности интервала QT в покое, предрасположенность женщин к лекарственно-индуцированному удлинению интервала QT объясняется более низкой массой тела по сравнению с мужчинами и, следовательно, повышенными концентрациями лекарственных средств в плазме крови [25]. Более того, женские кардиомиоциты меньше по размеру и сокращаются медленнее, что вызывает увеличение длительности потенциала действия. Кроме того, за счет эстроген-опосредованного воздействия они более подвержены ранним постдеполяризациям [3, 6, 19].

Следует отметить, что в исследованиях на моделях с использованием животных в женских кардиомиоцитах наблюдалось более выраженное лекарственно-индуцированное закрытие быстрых калиевых каналов, что нарушало выходящий ток калия из клетки. Эти изменения вызывали замедление реполяризации, удлинение потенциала действия и последующую раннюю активацию натриевых каналов и кальциевых каналов L-типа, что в свою очередь приводило к «триггерным» ранним постдеполяризациям, желудочковым нарушениям ритма и внезапной сердечной смерти [18–20].

Наше исследование имело некоторые ограничения. Во-первых, была исследована относительно небольшая выборка пациентов с лекарственно-индуцированным удлинением интервала QT, и в нее были включены только пациенты, получавшие антиаритмические препараты III класса (амиодарон и соталол). Во-вторых, продолжительность комплекса QRS, интервалов QT и $T_{\text{peak}} - T_{\text{end}}$ может изменяться из-за ремоделирования левого желудочка при ХСН, АГ, а также других сопутствующих заболеваниях. Эти факторы ограничивали непосредственную оценку эффекта антиаритмических препаратов.

Заключение. Таким образом, у пациенток женского пола с лекарственно-индуцированным синдромом удлинённого интервала QT отмечались достоверно большая продолжительность интервалов QTc и JTc, а также дисперсии интервалов QT и JT, что может свидетельствовать о более выраженной продолжительности и гетерогенности реполяризации женского миокарда по сравнению с мужским на фоне лекарственно-индуцированного удлинения интервала QT. Нами впервые установлены гендерные особенности значений скорректированного индекса кардиоэлектро-

физиологического баланса до назначения антиаритмической терапии и сохранение подобной тенденции на ее фоне. По данным ХМ-ЭКГ, у женщин наблюдалась тенденция к повышенному риску развития неустойчивой полиморфной ЖТ ($p = 0,105$).

В целом полученные результаты свидетельствуют о сложном взаимодействии между полом и реполяризацией, которое требует дальнейшего исследования. Учитывая гендерные особенности процесса реполяризации миокарда, следует не только соблюдать осторожность при назначении антиаритмических препаратов III класса женщинам, но и учитывать вопросы гендерной специфичности на этапе доклинической и клинической разработки лекарственных препаратов, обладающих эффектом удлинения интервала QT.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Bazett, H. C. An analysis of the time-relations of electrocardiograms / H. C. Bazett // *Ann. Noninvasive Electrocardiol.* – 1997. – Vol. 2, N 2. – P. 177–194. <https://doi.org/10.1111/j.1542-474X.1997.tb00325.x>
2. Moss, A. J. Gender differences in ECG parameters and their clinical implications / A. J. Moss // *Ann. Noninvasive Electrocardiol.* – 2010. – Vol. 15, N 1. – P. 1–2. <https://doi.org/10.1111/j.1542-474X.2009.00345.x>
3. Sex differences in cardiac arrhythmia: a consensus document of the European Heart Rhythm Association, endorsed by the Heart Rhythm Society and Asia Pacific Heart Rhythm Society / C. Linde [et al.] // *Europace.* – 2018. – Vol. 20, N 10. – P. 1565–1565a0. <https://doi.org/10.1093/europace/euy067>
4. Sex and race differences in QRS duration / K. Hnatkova [et al.] // *Europace.* – 2016. – Vol. 18, N 12. – P. 1842–1849. <https://doi.org/10.1093/europace/euw065>
5. Physiologic heart rate dependency 10.1093/europace/euw065 of the PQ interval and its sex differences / O. Toman [et al.] // *Sci. Rep.* – 2020. – Vol. 10, N 1. – Art. 2551. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59480-8>
6. Macfarlane, P. W. The Influence of Age and Sex on the Electrocardiogram / P. W. Macfarlane // *Sex-Specific Analysis of Cardiovascular Function* / eds. : P. L. M. Kerkhof, V. M. Miller. – Cham, 2018. – P. 93–106.
7. Salama, G. Sex differences in the mechanisms underlying long QT syndrome / G. Salama, G. C. Bett // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2014. – Vol. 307, N 5. – P. H640–H648. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00864.2013>
8. Колодей, Л. В. Методологические подходы к измерению и оценке длительности интервала QT стандартной электрокардиограммы / Л. В. Колодей, В. А. Снежицкий // *Журн. Гродн. гос. мед. ун-та.* – 2019. – Т. 17, № 1. – С. 99–105.
9. Mechanisms of sex and age differences in ventricular repolarization in humans / J. Vicente [et al.] // *Am. Heart J.* – 2014. – Vol. 168, N 5. – P. 749–756. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2014.07.010>
10. Influence of steroid hormones on ventricular repolarization / J. E. Salem [et al.] // *Pharmacol. Ther.* – 2016. – Vol. 167. – P. 38–47. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2016.07.005>
11. Coker, S. J. Drugs for men and women – how important is gender as a risk factor for TdP? / S. J. Coker // *Pharmacol. Ther.* – 2008. – Vol. 119, N 2. – P. 186–194. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2008.03.005>
12. Are women more susceptible than men to drug-induced QT prolongation? Concentration-QTc modelling in a phase 1 study with oral rac-sotalol / B. Darpo [et al.] // *Br. J. Clin. Pharmacol.* – 2014. – Vol. 77, N 3. – P. 522–531. <https://doi.org/10.1111/bcp.12201>
13. A new biomarker-index of cardiac electrophysiological balance (iCEB)—plays an important role in drug-induced cardiac arrhythmias: beyond QT-prolongation and Torsades de Pointes (TdPs) / H. R. Lu [et al.] // *J. Pharmacol. Toxicol. Methods.* – 2013. – Vol. 68, N 2. – P. 250–259. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2013.01.003>
14. Evaluation of Index of Cardio-Electrophysiological Balance (iCEB) as a New Biomarker for the Identification of Patients at Increased Arrhythmic Risk / T. Robyns [et al.] // *Ann. Noninvasive Electrocardiol.* – 2016. – Vol. 21, N 3. – P. 294–304. <https://doi.org/10.1111/anec.12309>
15. CredibleMeds [Electronic resource]. – Mode of access: <https://crediblemeds.org>. – Date of access: 20.02.2022.
16. Age and sex estimation using artificial intelligence from standard 12-lead ECGs / Z. I. Attia [et al.] // *Circ. Arrhythm. Electrocardiol.* – 2019. – Vol. 12, N 9. – P. e007284. <https://doi.org/10.1161/CIRCEP.119.007284>
17. Gender differences in the long QT syndrome: effects of beta-adrenoceptor blockade / C. E. Conrath [et al.] // *Cardiovasc. Res.* – 2002. – Vol. 53, N 3. – P. 770–776. [https://doi.org/10.1016/s0008-6363\(01\)00477-1](https://doi.org/10.1016/s0008-6363(01)00477-1)
18. Larger dispersion of I_{Na} in female dog ventricle as a mechanism for gender-specific incidence of cardiac arrhythmias / H. Barajas-Martinez [et al.] // *Cardiovasc. Res.* – 2009. – Vol. 81, N 1. – P. 82–89. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvn255>
19. Sex-specific I_{KAS} activation in rabbit ventricles with drug-induced QT prolongation / A. Z. Vu [et al.] // *Heart Rhythm.* – 2021. – Vol. 18, N 1. – P. 88–97. <https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2020.07.020>
20. Sex differences in repolarization and slow delayed rectifier potassium current and their regulation by sympathetic stimulation in rabbits / Y. Zhu [et al.] // *Pflugers Archiv.* – 2013. – Vol. 465, N 6. – P. 805–818. <https://doi.org/10.1007/s00424-012-1193-9>
21. Female gender as a risk factor for torsades de pointes associated with cardiovascular drugs / R. R. Makkar [et al.] // *JAMA.* – 1993. – Vol. 270, N 21. – P. 2590–2597. <https://doi.org/10.1001/jama.270.21.2590>
22. Sex difference in risk of torsade de pointes with d,l-sotalol / M. H. Lehmann [et al.] // *Circulation.* – 1996. – Vol. 94, N 10. – P. 2535–2541. <https://doi.org/10.1161/01.cir.94.10.2535>

23. Cardiac actions of erythromycin: influence of female sex / M. D. Drici [et al.] // *JAMA*. – 1998. – Vol. 280, N 20. – P. 1774–1776. <https://doi.org/10.1001/jama.280.20.1774>
24. Mechanism of cardiotoxicity of halofantrine / D. L. Wesche [et al.] // *Clin. Pharmacol. Ther.* – 2000. – Vol. 67, N 5. – P. 521–529. <https://doi.org/10.1067/mcp.2000.106127>
25. Nachimuthu, S. Drug-induced QT interval prolongation: mechanisms and clinical management. / S. Nachimuthu, M. D. Assar, J. M. Schussler // *Ther. Adv. Drug Saf.* – 2012. – Vol. 3, N 5. – P. 241–253. <https://doi.org/10.1177/2042098612454283>

References

1. Bazett H. C. An analysis of the time-relations of electrocardiograms. *Annals of Noninvasive Electrocardiology*, 1997, vol. 2, no. 2, pp. 177–194. <https://doi.org/10.1111/j.1542-474X.1997.tb00325.x>
2. Moss A. J. Gender differences in ECG parameters and their clinical implications. *Annals of Noninvasive Electrocardiology*, 2010, vol. 15 (1), pp. 1–2. <https://doi.org/10.1111/j.1542-474X.2009.00345.x>
3. Linde C., Bongiorno M. G., Birgersdotter-Green U., Curtis A. B., Deisenhofer I., Furokawa T. [et al.]. Sex differences in cardiac arrhythmia: a consensus document of the European Heart Rhythm Association, endorsed by the Heart Rhythm Society and Asia Pacific Heart Rhythm Society. *Europace*, 2018, vol. 20, no. 10, pp. 1565–1565a. <https://doi.org/10.1093/europace/euy067>
4. Hnatkova K., Smetana P., Toman O., Schmidt G., Malik M. Sex and race differences in QRS duration. *Europace*, 2016, vol. 18, no. 12, pp. 1842–1849. <https://doi.org/10.1093/europace/euw065>
5. Toman O., Hnatkova K., Smetana P., Huster K. M., Šišáková M., Barthel P., Novotný T., Schmidt G., Malik M. Physiologic heart rate dependency of the PQ interval and its sex differences. *Scientific Reports*, 2020, vol. 10, no. 1, art. 2551. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59480-8>
6. Macfarlane P. W. The Influence of Age and Sex on the Electrocardiogram. *Sex-Specific Analysis of Cardiovascular Function*. Cham, 2018, pp. 93–106.
7. Salama G., Bett G. C. Sex differences in the mechanisms underlying long QT syndrome. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 2014, vol. 307, no. 5, pp. H640–H648. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00864.2013>
8. Kolotsei L. V., Snezhitskii V. A. Methodological approaches to measuring and estimating the duration of QT interval of a standard electrocardiogram. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta* [Journal of the Grodno State Medical University], 2019, vol. 17, no. 1, pp. 99–105 (Russian).
9. Vicente J., Johannesen L., Galeotti L., Strauss D. G. Mechanisms of sex and age differences in ventricular repolarization in humans. *American Heart Journal*, 2014, vol. 168, no. 5, pp. 749–756. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2014.07.010>
10. Salem J. E., Alexandre J., Bachelot A., Funck-Brentano C. Influence of steroid hormones on ventricular repolarization. *Pharmacology and Therapeutics*, 2016, vol. 167, pp. 38–47. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2016.07.005>
11. Coker S. J. Drugs for men and women – how important is gender as a risk factor for TdP? *Pharmacology and Therapeutics*, 2008, vol. 119, no. 2, pp. 186–194. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2008.03.005>
12. Darpo B., Karnad D. R., Badilini F., Florian J., Garnett C. E., Kothari S., Panicker G. K., Sarapa N. Are women more susceptible than men to drug-induced QT prolongation? Concentration-QTc modelling in a phase 1 study with oral rac-sotalol. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 2014, vol. 77, no. 3, pp. 522–531. <https://doi.org/10.1111/bcp.12201>
13. Lu H. R., Yan G. X., Gallacher D. J. A new biomarker-index of cardiac electrophysiological balance (iCEB) – plays an important role in drug-induced cardiac arrhythmias: beyond QT-prolongation and Torsades de Pointes (TdPs). *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 2013, vol. 68, no. 2, pp. 250–259. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2013.01.003>
14. Robyns T., Lu H. R., Gallacher D. J., Garweg C., Ector J., Willems R., Janssens S., Nuyens D. Evaluation of Index of Cardio-Electrophysiological Balance (iCEB) as a New Biomarker for the Identification of Patients at Increased Arrhythmic Risk. *Annals of Noninvasive Electrocardiology*, 2016, vol. 21, no. 3, pp. 294–304. <https://doi.org/10.1111/anec.12309>
15. *CredibleMeds* [Electronic resource]. Available at: <https://crediblemeds.org> (accessed 20.02.2022).
16. Attia Z. I., Friedman P. A., Noseworthy P. A., Lopez-Jimenez F., Ladewig D. J., Satam G. [et al.]. Age and sex estimation using artificial intelligence from standard 12-lead ECGs. *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology*, 2019, vol. 12, no. 9, p. e007284. <https://doi.org/10.1161/CIRCEP.119.007284>
17. Conrath C. E., Wilde A. A., Jongbloed R. J., Alders M., van Langen I. M., van Tintelen J. P., Doevendans P. A., Opthof T. Gender differences in the long QT syndrome: effects of beta-adrenoceptor blockade. *Cardiovascular Research*, 2002, vol. 53, no. 3, pp. 770–776. [https://doi.org/10.1016/s0008-6363\(01\)00477-1](https://doi.org/10.1016/s0008-6363(01)00477-1)
18. Barajas-Martinez H., Haufe V., Chamberland C., Roy M.-J. B., Fecteau M. H., Cordeiro J. M., Dumaine R. Larger dispersion of Ina in female dog ventricle as a mechanism for gender-specific incidence of cardiac arrhythmias. *Cardiovascular Research*, 2009, vol. 81, no. 1, pp. 82–89. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvn255>
19. Wu A. Z., Chen M., Yin D., Everett T. H., Chen Z., Rubart M., Weiss J. N., Qu Z., Chen P.-S. Sex-specific I_{KAS} activation in rabbit ventricles with drug-induced QT prolongation. *Heart Rhythm*, 2021, vol. 18, no. 1, pp. 88–97. <https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2020.07.020>
20. Zhu Y., Ai X., Oster R. A., Bers D. M., Pogwizd S. M. Sex differences in repolarization and slow delayed rectifier potassium current and their regulation by sympathetic stimulation in rabbits. *Pflügers Archiv*, 2013, vol. 465, no. 6, pp. 805–818. <https://doi.org/10.1007/s00424-012-1193-9>
21. Makkar R. R., Fromm B. S., Steinman R. T., Meissner M. D., Lehmann M. H. Female gender as a risk factor for torsades de pointes associated with cardiovascular drugs. *JAMA*, 1993, vol. 270, no. 21, pp. 2590–2597. <https://doi.org/10.1001/jama.270.21.2590>

22. Lehmann M. H., Hardy S., Archibald D., Quart B., MacNeil D. J. Sex difference in risk of torsade de pointes with d,l-sotalol. *Circulation*, 1996, vol. 94, no. 10, pp. 2535–2541. <https://doi.org/10.1161/01.cir.94.10.2535>
23. Drici M. D., Knollmann B. C., Wang W. X., Woosley R. L. Cardiac actions of erythromycin: influence of female sex. *JAMA*, 1998, vol. 280, no. 20, pp. 1774–1776. <https://doi.org/10.1001/jama.280.20.1774>
24. Wesche D. L., Schuster B. G., Wang W. X., Woosley R. L. Mechanism of cardiotoxicity of halofantrine. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 2000, vol. 67, no. 5, pp. 521–529. <https://doi.org/10.1067/mcp.2000.106127>
25. Nachimuthu S., Assar M. D., Schussler J. M. Drug-induced QT interval prolongation: mechanisms and clinical management. *Therapeutic Advances in Drug Safety*, 2012, vol. 3, no. 5, pp. 241–253. <https://doi.org/10.1177/2042098612454283>

Информация об авторах

Колоцей Людмила Владимировна – аспирант, ассистент. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: lkolotsey@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0001-5211-709X>

Снежицкий Виктор Александрович – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: vsnezh@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0002-1706-1243>

Information about the authors

Liudmila V. Kalatsei – Postgraduate student, Assistant. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230009, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: lkolotsey@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0001-5211-709X>

Viktor A. Snezhitskiy – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230009, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: vsnezh@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0002-1706-1243>

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 547.327:547.295.9:612.884

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-4-364-374>

Поступила в редакцию 13.09.2022

Received 13.09.2022

А. С. Доронькина¹, А. Л. Михальчук², С. В. Губкин¹, А. Ю. Молчанова¹, В. Г. Богдан³

¹Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

³Отделение медицинских наук НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ВЛИЯНИЕ АМИДОВ ЖИРНЫХ КИСЛОТ С ЭТАНОЛАМИНОМ И ГЛИЦИНОМ НА НОЦИЦЕПТИВНЫЕ РЕАКЦИИ И ПАРАМЕТРЫ ПОХОДКИ КРЫС В НОРМЕ И ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ МОНОНЕЙРОПАТИИ

Аннотация. Изучено влияние амидов жирных кислот с этаноламином и глицином на паттерны походки и ноцицептивные реакции у здоровых крыс и крыс с экспериментальной периферической нейропатией. Показано, что при купировании нейропатической боли и восстановлении параметров походки пальмитоилэтаноламид и стеароилэтаноламид более эффективны, чем пальмитамид глицина.

Ключевые слова: пальмитоилэтаноламид, стеароилэтаноламид, пальмитамид глицина, ноцицептивная чувствительность, паттерны походки, CatWalk

Для цитирования: Влияние амидов жирных кислот с этаноламином и глицином на ноцицептивные реакции и параметры походки крыс в норме и при экспериментальной периферической мононейропатии / А. С. Доронькина [и др.] // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2022. – Т. 19, № 4. – С. 364–374. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-4-364-374>

Anastasya S. Doronkina¹, Alexander L. Mikhalechuk², Sergey V. Goubkin¹, Alla Yu. Molchanova¹, Vasily G. Bogdan³

¹Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

²Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

³Department of Medical Sciences of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

EFFECTS OF FATTY ACID AMIDES WITH ETHANOLAMINE AND GLYCINE ON NOCICEPTIVE REACTIONS AND GAIT PARAMETERS IN RATS IN NORMAL AND EXPERIMENTAL PERIPHERAL MONONEUROPATHY

Abstract. The effects of fatty acid amides ethanolamine and glycine on gait patterns and nociceptive reactions was investigated after injections of these fatty acid derivatives in healthy rats and in rats with experimental peripheral neuropathy. It has been proven that palmitoylethanolamide and the stearoylethanolamide are more effective at relieving neuropathic pain and restoring gait parameters than glycine palmitamide.

Keywords: palmitoylethanolamide, stearoylethanolamide, palmitoylglycine, nociceptive sensitivity, gait patterns, CatWalk

For citation: Doronkina A. S., Mikhalechuk A. L., Goubkin S. V., Molchanova A. Y., Bogdan V. G. Effects of fatty acid amides with ethanolamine and glycine on nociceptive reactions and gait parameters in rats in normal and experimental peripheral mononeuropathy. *Vestsi Natsyynal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2022, vol. 19, no. 4, pp. 364–374 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-4-364-374>

Введение. Ходьба – сложный двигательный акт, требующий согласованной работы центральных мозговых структур, проводящих путей, периферических нервов, мышц корпуса и конечностей. Вовлечение нервных структур разного уровня в осуществление и контроль двигательных актов обуславливает разнообразие этиологических факторов нарушения последних. Многие неврологические и некоторые ортопедические заболевания сопровождаются развитием типичных изменений походки. Одной из таких патологий является нейропатия вследствие поражения периферических нервов. Периферическая нейропатия может развиваться на фоне интоксикаций (злоупотребление алкоголем, химиотерапия), эндокринных (сахарный диабет), инфекционных (ВИЧ, клещевой боррелиоз) или соматических заболеваний и проявляется расстройствами чувствительности и двигательных функций. Повреждение периферических нервов может сопровождаться ощущением онемения конечности или, наоборот, проявляться периодическими жгучими болями. Кроме того, нарушение иннервации мышц приводит к их дисфункции

и даже атрофии, что, как и измененная чувствительность, сказывается на походке. Примером патологических изменений походки при периферических нейропатиях является развитие пареза стопы. Тяжесть изменения походки служит одним из критериев выбора тактики лечения неврита или полинейропатии, а в лабораторных исследованиях считается дополнительным параметром определения эффективности предлагаемых методик в экспериментальных моделях артрита, нейропатии, ишемии и т. д. [1].

Одним из перспективных направлений разработки новых фармакологических препаратов для ослабления боли и других последствий повреждения периферических нервов считается изучение физиологических эффектов амидов жирных кислот (FAA) с этаноламином и аминокислотами. Указанные соединения участвуют в модуляции высвобождения нейротрансмиттеров и функционировании клеточных энергетических систем и способны оказывать протекторное действие при патологических процессах и состояниях, сопровождающихся болью и воспалением [2]. К наиболее изученным представителям этого ряда липидов можно отнести пальмитоилэтаноламид (PEA), стеароилэтаноламид (SEA), пальмитамид глицина (PalGly) [3–5].

Авторами работы ранее были получены данные об обезболивающем действии PEA и SEA в дозе 750 мг/кг [5] и PalGly в дозе 2,5 мкмоль/кг [2] на порог ноцицептивной реакции (ПНР) и латентный период ноцицептивной реакции (ЛПНР) у интактных крыс. Также однократное предварительное (за 1 ч до измерения) болюсное внутрибрюшинное введение PEA в аналогичной дозе на 7-е и 14-е сутки существенно ослабляло вызванную лигированием седалищного нерва термическую и механическую гипералгезии, на 21-е сутки ЛПНР и ПНР у таких животных возвращались к контрольным значениям [6]. Болюсная инъекция 750 мкг/кг SEA на 7-е сутки после моделирования мононейропатии достоверно увеличивала значения исследуемых показателей. Полученные данные свидетельствуют о выраженном антиноцицептивном действии SEA и PEA при моделировании как острой, так и нейропатической боли. Антиноцицептивный эффект SEA при моделировании мононейропатии сравним с таковым у PEA [6].

Антиноцицептивное действие указанных субстанций доказано, в том числе и в более ранних наших исследованиях [2, 7], тогда как их влияние на походку в норме и при экспериментальной нейропатии еще не изучено.

Цель настоящей работы – регистрация и сравнение паттернов походки и параметров ноцицептивных реакций крыс после введения производных жирных кислот (пальмитоилэтаноламида, стеароилэтаноламида и пальмитамид глицина) у здоровых крыс и крыс с экспериментальной периферической нейропатией.

Материалы и методы исследования. *Исследуемые вещества.* PEA (Sigma-Aldrich, США), SEA и PalGly (синтезированы в лаборатории химии липидов ИБОХ НАН Беларуси). FAA являются гидрофобными соединениями, что создает дополнительные трудности при использовании экспериментальных субстанций. В ряде статей показано, что Твин 80 является хорошим растворителем для липофильных соединений [8–10]. В связи с этим соединения растворяли в смеси, состоящей из этанола, Твина 80 и апирогенного физиологического раствора в соотношении 1:1:8.

Эксперименты выполнены на 65 крысах-самцах стока Вистар массой 210–230 г. Крысы были разделены на группы: Интактные + PEA ($n = 7$), Интактные + SEA ($n = 7$), Интактные + PalGly ($n = 7$), Лигирование седалищного нерва (далее – Лигирование) ($n = 10$), Лигирование + PEA ($n = 10$), Лигирование + SEA ($n = 10$), Лигирование + PalGly ($n = 7$), Лигирование + растворитель ($n = 7$). Однократное введение исследуемых препаратов осуществляли внутрибрюшинно в дозе 1,5 мг/кг в 1 мл растворителя на 1-е сутки для интактных и на 7-е сутки для животных с нейропатией после проведения тестов на ноцицептивную чувствительность и регистрации паттернов походки. Контролем служила группа животных, которым внутрибрюшинно вводили растворитель из расчета 1 мл/кг. Животных содержали в виварии Института физиологии НАН Беларуси в соответствии с установленными нормами [7]. Крысы находились на одинаковом стандартном рационе и имели свободный доступ к воде и пище. Световой режим в условиях виварии обеспечивали автоматической сменой освещения «день/ночь» каждые 12 ч. Все манипуляции с животными осуществляли с соблюдением «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов» (Страсбург, Франция, 1986) [11].

Моделирование периферической нейропатии осуществляли путем тройного лигирования седалищного нерва на уровне верхней трети бедра до трифуркации [2, 12]. С помощью теста Рандалла–Селитто фиксировали ПНР, а именно минимальное давление вершины пластикового конуса на стопу экспериментального животного в граммах, при котором отмечали специфическую болевую реакцию (отдергивание лапы или вокализацию). При применении теста *hot plate* измеряли ЛПНР – время с момента помещения животного на горячую (50 °С) пластинку до осуществления ноцицептивной реакции в секундах (облизывание задней лапы, вокализация, попытка выпрыгнуть из камеры).

Анализ параметров походки был проведен с использованием аппаратно-программного комплекса CatwalkTX (Noldus, Нидерланды). В данном комплексе зеленый свет отражается от стеклянной пластины, на которой установлен закрытый коридор с красной подсветкой над ним. Видеокамеру размещали под установкой на расстоянии 56 см и регистрировали отпечатки лап, освещенные зеленым светом, во время соприкосновения со стеклянной пластиной [13, 14]. Пробег считался удачным, когда крыса входила в коридор и плавно перемещалась по пластине к выходу в другом конце коридора, при этом продолжительность пробега составляла менее 5 с, а максимальное отклонение – менее 75 %. Для каждого животного было зарегистрировано по три соответствующих пробега в каждой временной точке эксперимента.

При обработке статистических данных у здоровых животных вычисляли среднее арифметическое значение показателей ПНР между правой и левой задними конечностями, ЛПНР и показателей походки, а у животных с нейропатией седалищного нерва данные показатели обрабатывали и графически представляли отдельно для ипсилатеральной и контрлатеральной конечности.

На основе анализа литературных источников для оценки походки нами были выбраны следующие параметры: интенсивность отпечатка, длительность стойки (с), длина отпечатка (см), ширина отпечатка (см), площадь отпечатка (см²), максимальная площадь контакта (см²), скорость переноса лапы (см/с), скорость пробега (см/с) [15]. Для увеличения наглядности на графиках приведены проценты изменения показателей, а не их значения.

Тесты на ноцицептивную чувствительность и регистрацию параметров походки проводили до операции и на 7, 14, 21, 30 и 60-е сутки, для каждого животного трехкратно с интервалом 5–7 мин, полученные данные усредняли.

Анализ данных выполняли с помощью программ Microsoft Excel, Origin и Statistica 10. Проверку гипотезы о нормальном распределении количественных показателей осуществляли с помощью программы Origin 7.0 по критерию Шапиро–Уилка ($p < 0,05$). Данные представлены в виде медианы (Me) и интервального размаха с указанием 25-го и 75-го перцентилей. Статистическую значимость количественных признаков определяли с помощью непараметрических тестов: Уилкоксона для зависимых выборок и Манна–Уитни для независимых выборок в парных сравнениях. Для анализа взаимосвязи двух количественных признаков использовали метод ранговой корреляции Спирмена. Изменения считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Однократная внутрибрюшинная инъекция каждого из исследуемых FAA в дозе 1,5 мг/кг здоровым животным приводила к статистически значимому увеличению усредненного ПНР обеих задних конечностей. Через 1 ч после введения PEA, SEA или PalGly ПНР достоверно увеличивался на 16,8 % ($p < 0,02$), 18,1 % ($p < 0,01$) и 12,7 % ($p < 0,01$) соответственно по сравнению с исходными данными (табл. 1, рис. 1).

Изменения ЛПНР, зарегистрированные в тесте *hot plate*, также были статистически значимыми во всех группах. У животных через 1 ч после введения PEA было отмечено увеличение ЛПНР на термический стимул на 21,7 % ($p < 0,02$), после инъекции SEA – на 25,3 % ($p < 0,01$) и после PalGly – на 33,6 % ($p < 0,01$) (рис. 1). При этом следует отметить, что анальгезирующий эффект, вызванный введением PalGly, в тесте *hot plate* был достоверно выше, чем у животных, которым вводили PEA и SEA в аналогичной дозе (см. табл. 1).

Несмотря на однонаправленность эффектов изучаемых субстанций на ноцицептивные реакции крыс, они по-разному влияли на исследуемые параметры походки. Из всех трех веществ достоверное увеличение (на 21,9 %, $p < 0,04$) ширины отпечатков задних конечностей по сравне-

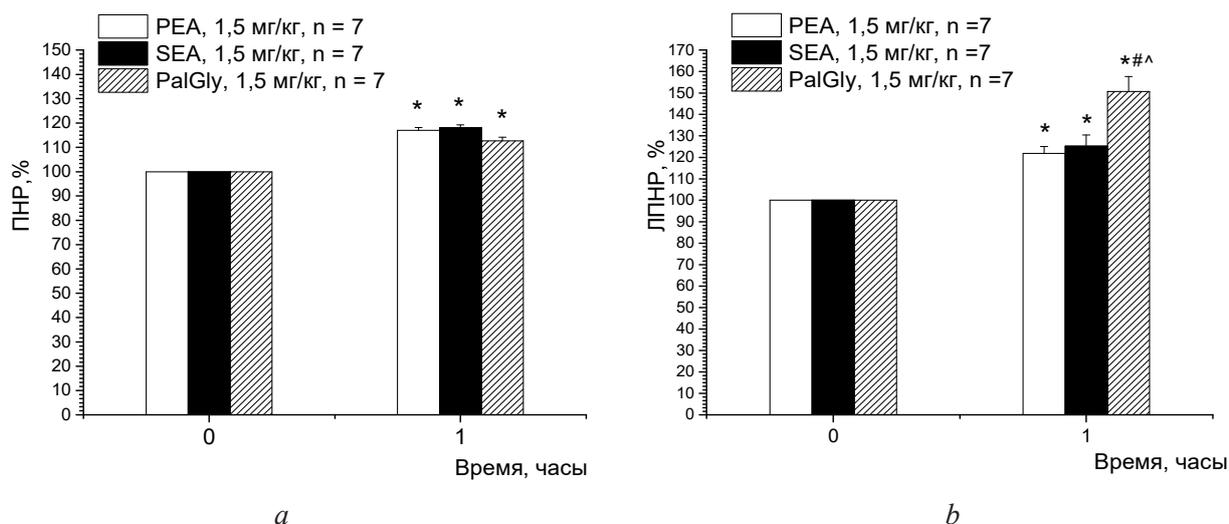


Рис. 1. Изменение усредненного порога ноцицептивной реакции задних конечностей (а) и латентного периода ноцицептивной реакции (b) у здоровых крыс через 1 ч после внутрибрюшинного введения FAA (PEA, SEA и PalGly). Достоверность различий ($p < 0,05$): * – по сравнению со значениями до введения (0), # – по сравнению со значениями в группе Интактные + PEA, ^ – по сравнению со значениями в группе Интактные + SEA

Fig. 1. Change in of the period of the nociceptive reaction of the hind limbs (a) and the latent period of the nociceptive reaction (b) shown as a percentage of values before injection during the follow-up period of 1 hour after intraperitoneal injection of FAA (PEA, SEA, and PalGly) in healthy rats. Significance of differences ($p < 0.05$): * – compared to the values before injection (0), # – compared to the Intact + PEA group, ^ – compared to the Intact + SEA group

нию со значениями до введения отмечено исключительно в группе после инъекции SEA (рис. 2, табл. 1).

Достоверное увеличение скорости переноса задних конечностей на 16,6 % ($p < 0,02$) (рис. 3, a) и скорости пробега на 29,1 % ($p < 0,05$) (рис. 3, b) было вызвано только внутрибрюшинной инъекцией PalGly в дозе 1,5 мг/кг ($n = 8$) (см. табл. 1).

Резюмируя изложенное выше, отметим, что применение FAA (PEA, SEA и PalGly) в одинаковых условиях эксперимента приводило к схожему анальгезирующему эффекту, что отразилось на показателях ноцицептивных реакций. Однако при регистрации походки на интенсивность отпечатка больше влияло SEA, а на скорость пробега крыс – PalGly. Выбранные нами показатели походки, такие как длительность стойки, максимальная площадь контакта и интенсивность отпечатка достоверно не изменялись в ходе эксперимента.

На втором этапе эксперимента было проведено моделирование у крыс периферической нейропатии посредством лигирования седалищного нерва. На 7-е сутки после моделирования соответствующей патологии у лабораторных животных отмечалось статистически значимое понижение ПНР ипсилатеральной (поврежденной) конечности на 29,3 % ($p < 0,0002$) по сравнению с его уровнем до операции. В то же время при проведении соответствующего теста подобного эффекта как на контрлатеральной (неповрежденной) (рис. 4, a), так и на обеих задних конечностях в группе Лигирование + растворитель обнаружено не было (табл. 2).

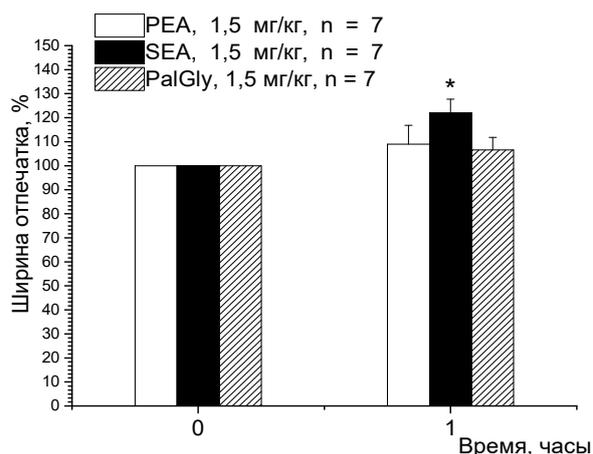


Рис. 2. Изменение усредненной ширины отпечатка задних лап у здоровых крыс через 1 ч после внутрибрюшинного введения FAA (PEA, SEA и PalGly). * – $p < 0,05$ по сравнению со значениями до введения

Fig. 2. Change in the averaged width of the hind paw print shown as a percentage of values before injection during the follow-up period of 1 hour after intraperitoneal injection of FAA (PEA, SEA, and PalGly).

* – $p < 0.05$ – compared to the values before injection

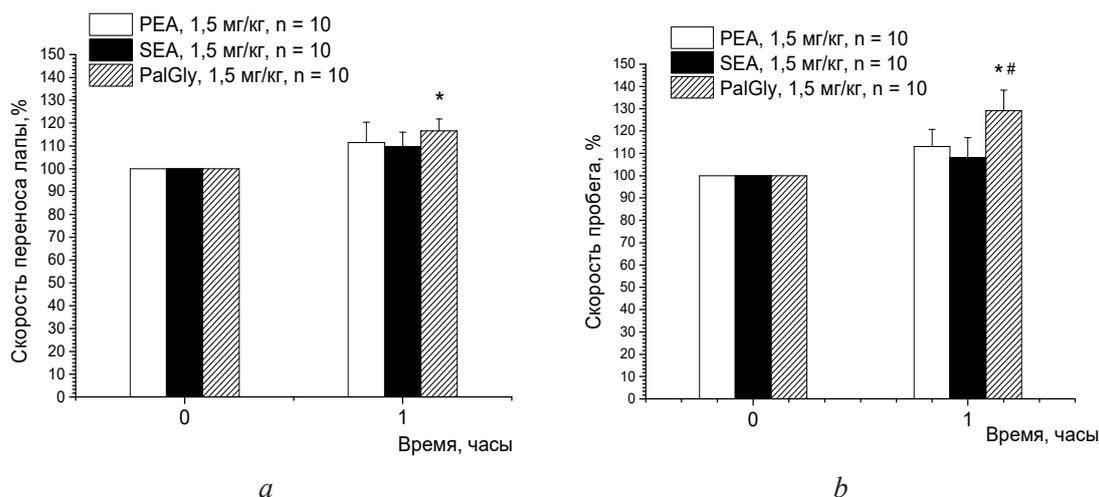


Рис. 3. Изменение усредненной скорости переноса задних конечностей (а) и скорости пробега (б) у здоровых крыс через 1 ч после внутривентриального введения FAA (PEA, SEA и PalGly). Достоверность различий ($p < 0,05$): * – по сравнению со значениями до введения (0), # – по сравнению с группой Интактные + PEA

Fig. 3. Change in limb transfer rates (a) and mileage rates (b) shown as a percentage of values before injection during the follow-up period of 1 hour after intraperitoneal injection of FAA (PEA, SEA, and PalGly). Significance of differences ($p < 0.05$): * – compared to the values before injection (0), # – compared to the Intact + PEA group

Т а б л и ц а 1. Динамика изменения усредненных значений ноцицептивной чувствительности и параметров обеих задних конечностей у интактных крыс до и через 1 ч после внутривентриального введения FAA (PEA, SEA and PalGly) в дозе 1,5 мг/кг, Ме [25 %–75 %]

Table 1. Change dynamics of the averaged values of the nociceptive reactions and the gait of the both hind limb rates before injection during the follow-up period of 1 hour after intraperitoneal injection of FAA (PEA, SEA, and PalGly) at a dose of 1.5 mg/kg, Ме [25 %–75 %]

Время эксперимента	PEA	SEA	PalGly
ПНР, г			
До введения FAA	125,0 (122,0–127,0)	127,0 (123,0–129,5)	125,5 (121,8–128,3)
После введения FAA	148,0 (142,0–151,0)*	151,5 (148,8–154,0)*	140,5 (135,8–144,3)*
ЛПНР, с			
До введения FAA	22,1 (20,3–23,7)	23,3 (22,3–23,9)	23,3 (18,1–24,9)
После введения FAA	26,8 (25,5–28,1)*	28,4 (24,9–32,5)*	34,5 (28,3–37,7)*#^
Ширина отпечатка, см			
До введения FAA	1,2 (0,9–1,5)	1,3 (1,2–1,4)	1,6 (1,4–1,7)
После введения FAA	1,6 (1,1–1,8)	1,6 (1,6–1,7)*	1,7 (1,5–1,9)
Скорость пробега, см/с			
До введения FAA	23,2 (20,2–25,3)	24,7 (23,3–25,0)	19,6 (18,9–21,1)
После введения FAA	24,5 (22,3–28,5)	28,9 (24,7–29,6)	25,8 (23,2–30,8)*#
Скорость переноса лапы, см/с			
До введения FAA	62,9 (62,7–86,9)	86,9 (78,9–92,9)	88,1 (83,8–94,6)
После введения FAA	86,5 (70,0–91,5)	90,9 (86,7–104,4)	103,6 (99,8–109,1)*

П р и м е ч а н и е. Достоверность различий ($p < 0,05$): * – по сравнению со значениями до введения (0), # – по сравнению с группой Интактные + PEA, ^ – по сравнению с группой Интактные + SEA.

Лигирование седалищного нерва на 7-е сутки также приводило к достоверному снижению ЛПНР на 34,5 % ($p < 0,005$). Изложенное выше свидетельствует о развитии механической и термической гипералгезии, характерной для данной экспериментальной модели (рис. 4, б; табл. 2).

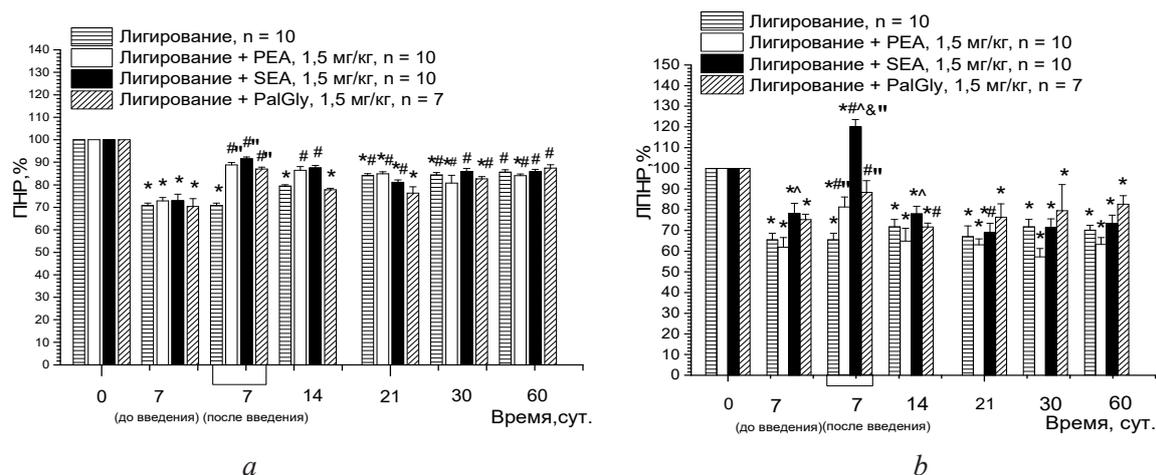


Рис. 4. Изменение порога ноцицептивной реакции ипсилатеральной конечности (а) и латентного периода ноцицептивной реакции (b) у крыс с периферической нейропатией после внутрибрюшинного введения FAA (PEA, SEA и PalGly). Скобкой отмечено время введения веществ. Достоверность различий ($p < 0,05$):

* – по сравнению со значениями до операции (0), # – по сравнению со значениями на 7-е сутки до введения, ^ – по сравнению с контрольной группой, ^ – по сравнению с группой Лигирование + PEA, & – по сравнению с группой Лигирование + PalGly

Fig. 4. Change in the threshold of the nociceptive reaction of ipsilateral limb (A) and the latent period of nociceptive reaction (B) in rats with peripheral neuropathy after intraperitoneal injection of FAA (PEA, SEA, and PalGly).

The administration time of substances is marked with a bracket. Significance of differences ($p < 0.05$):

* – compared to the values before surgery, # – compared to the values on the 7th day before injection, compared to the control group, ^ – compared to the Ligation + PEA group, & – compared to the Ligation + PalGly group

Применение FAA на 7-е сутки вызывало достоверное увеличение ПНР в ипсилатеральной конечности у крыс с нейропатией: при введении PEA – на 22,8 % ($p < 0,005$), при введении SEA и PalGly – на 26,2 % ($p < 0,007$) и 24,7 % ($p < 0,02$) соответственно по сравнению со значениями до введения (рис. 4, a).

Также после введения исследуемых субстанций FAA были зарегистрированы достоверные изменения ЛПНР. Анальгезирующая активность PEA в этом тесте ($n = 10$) составила 31,7 % ($p < 0,005$) по отношению к значениям до введения, SEA вызвал более выраженное повышение ЛПНР – на 53,3 % ($p < 0,007$), тогда как у крыс, которым вводили PalGly, ЛПНР возрос лишь на 17,4 % ($p < 0,04$). Однако, согласно полученным данным, при применении каждого из исследуемых веществ восстановления данного показателя до исходных значений не происходило (рис. 4, b; табл. 2).

При регистрации показателей походки у животных с нейропатией отмечено снижение интенсивности контакта с платформой (на 17,5 %, $p < 0,02$) и площади отпечатка (на 30,6 %, $p < 0,05$) ипсилатеральной конечности на 7-е сутки после операции, что совпадает с началом нарастания механической гипералгезии. В то же время при анализе указанных показателей контрлатеральной конечности подобного эффекта не обнаружено.

Через 1 ч после введения FAA на фоне вызванной лигированием нерва гипералгезии отмечено достоверное увеличение площади отпечатка: на 31,5 % – для PEA ($p < 0,03$), на 32,8 % – для SEA ($p < 0,02$), на 15,4 % – для PalGly ($p < 0,05$) (рис. 5, a). Также было зафиксировано статистически значимое увеличение интенсивности отпечатка ипсилатеральной конечности на 16,9 % ($p < 0,02$), 18,5 % ($p < 0,02$) и 12,1 % ($p < 0,02$) по сравнению со значениями до введения PEA, SEA или PalGly соответственно (рис. 5, b).

Скорость переноса ипсилатеральной конечности возрастала по сравнению со значениями до введения FAA: для PEA – на 21,1 % ($p < 0,02$), для SEA – на 22,3 % ($p < 0,05$) и для PalGly – на 24,2 % ($p < 0,02$) (рис. 6). Схожая динамика была отмечена при анализе ширины и длины отпечатка ипсилатеральной конечности после введения анализируемых веществ в дозе 1,5 мг/кг, однако указанные показатели изменялись недостоверно. Применение растворителя не приводило к достоверным изменениям показателей походки у крыс с периферической нейропатией, что в свою очередь согласуется с показателями ноцицептивной чувствительности (см. табл. 2).

Таблица 2. Динамика изменений показателей ноцицептивной реакции и параметров походки у крыс с периферической нейропатией после внутрибрюшинного введения FAA (PEA, SEA и PalGly) в дозе 1,5 мг/кг, Me [25 %-75 %]

Table 2. Change dynamics of nociceptive reactions and gait patterns in rats with peripheral neuropathy after intraperitoneal injection of FAA (PEA, SEA, and PalGly) at a dose of 1.5 mg/kg, Me [25 %-75 %]

Сутки \ Группа	Лигирование	Лигирование + растворитель	Лигирование + PEA	Лигирование + SEA	Лигирование + PalGly
ПНР, г					
0-е	127 (123–130)	127 (124–130)	132 (127–135)	124 (121–129)	127 (123–132)
7-е: до введения	90 (87–93)*	81 (74–87)*	95 (91–100)*	88 (85–98)*	88 (81–93)*
после введения	–	80 (76–88)*	115 (112–120)* ^{##}	115 (111–117)* ^{##}	110 (109–113)* ^{##}
14-е	102 (99–103)*	86 (75–92)*	112 (110–118) [#]	110 (106–112) [#]	98 (95–104)*
21-е	108 (104–109)* [#]	92 (85–99)*	111 (110–113)* [#]	101 (97–105)* [#]	94 (89–106)*
30-е	106 (104–110)* [#]	80 (75–86)*	109 (106–113)* [#]	109 (104–112) [#]	106 (101–110)* [#]
60-е	109 (107–111) [#]	87 (79–92)*	111 (108–112)* [#]	107 (104–110) [#]	111 (107–114) [#]
ЛПНР, с					
0-е	20 (18–21)	23 (20–27)	21 (19–23)	22 (19–23)	19 (16–22)
7-е: до введения	13 (11–14)*	13 (11–15)*	12 (11–15)*	16 (15–18)* ^{^^}	14 (13–15)*
после введения	–	14 (9–15)*	16 (15–18)* ^{##}	27 (23–28)* ^{##&^^}	17 (16–19) ^{##}
14-е	14 (13–15)*	14 (12–16)*	13 (11–15)*	16 (15–18)* ^{^^}	14 (13–15)* [#]
21-е	13 (12–15)*	12 (11–14)*	13 (11–15)*	15 (13–15)* [#]	14 (13–16)*
30-е	13 (13–15)*	15 (13–16)*	11 (10–13)*	15 (13–17)*	10 (21–14)*
60-е	13 (13–15)*	15 (12–16)*	13 (12–14)*	16 (14–17)*	16 (14–18)*
Площадь отпечатка ипсилатеральной конечности, см ²					
0-е	1,2 (0,9–1,2)	1,0 (0,9–1,5)	0,7(0,5–0,8)	0,9 (0,8–1,4)	0,8 (0,7–0,9)
7-е: до введения	0,7 (0,7–0,8)*	0,9 (0,8–1,0)	0,6 (0,4–0,7)	0,8 (0,5–0,9)	0,6 (0,5–0,6)*
после введения	–	0,8 (0,7–0,9)*	0,9(0,7–1,0) ^{##&}	1,1 (1,0–1,3) ^{##&}	0,5 (0,5–0,8)*
14-е	0,8 (0,6–1,0)*	0,9 (0,7–0,9)	0,8(0,6–1,0) ^{&}	0,9 (0,6–1,2)	0,5 (0,5–0,6)*
21-е	0,9 (0,7–0,9)*	0,9 (0,8–1,1)	0,7 (0,6–0,8) ^{##}	0,9 (0,7–0,9)	0,7 (0,3–0,8)*
30-е	0,9 (0,7–1,2)	1,0 (0,8–1,0)	0,6 (0,5–0,8) ^{&}	0,7 (0,6–0,9)	0,6 (0,3–0,8)*
60-е	0,9 (0,7–0,9)*	0,8 (0,7–1,3)	0,6 (0,5–0,7)	0,8 (0,7–0,9)	0,6 (0,6–0,8)
Интенсивность отпечатка, а. е.					
0-е	189 (179–195)	201 (181–203)	171 (156–180)	174 (156–178)	153 (142–170)
7-е: до введения	144 (139–149)*	162 (148–168)*	149 (127–159)*	139 (133–147)*	138 (116–149)*
после введения	–	162 (159–169)*	167 (157–186) ^{##}	176 (147–187) ^{##}	151 (126–167)
14-е	153 (137–178)*	169 (163–179)*	177 (124–186)	154 (108–187)	133 (116–151)
21-е	148 (139–167)*	185 (144–195)	152 (115–168)	148 (137–172)	138 (129–143)
30-е	147 (136–161)	185 (142–196)	149 (121–164)*	145 (136–167)	141 (126–169)
60-е	134 (129–181)*	173 (169–178)*	170 (134–179)	158 (136–164)	156 (108–182)
Скорость переноса лапы, см/с					
0-е	97 (90–107)	104 (96–109)	95 (80–105)	96 (87–117)	102 (94–115)
7-е: до введения	91 (86–102)	92 (85–92)*	85 (73–91)	97 (81–101)	87 (65–97)*
после введения	–	85 (78–91)*	104 (92–117) ^{##&}	104 (100–109) [#]	109 (104–114)
14-е	100 (93–102)	89 (71–105)	102 (86–108) [#]	95 (88–103)	94 (82–98)*
21-е	96 (88–98)	87 (76–97)*	100 (90–108) [#]	87 (73–110)*	90 (79–102)*
30-е	96 (81–117)	89 (81–90)*	100 (95–111) [#]	90 (82–98)*	103 (95–110)
60-е	98 (93–103)	106 (97–108)	107 (95–112) [#]	95 (90–106)	99 (71–128)

Примечание. Достоверность различий ($p < 0,05$): * – по сравнению со значениями до операции, # – по сравнению со значениями на 7-е сутки, ## – по сравнению с контрольной группой, ^^ – по сравнению с группой Лигирование + PEA, & – по сравнению с группой Лигирование + PalGly.

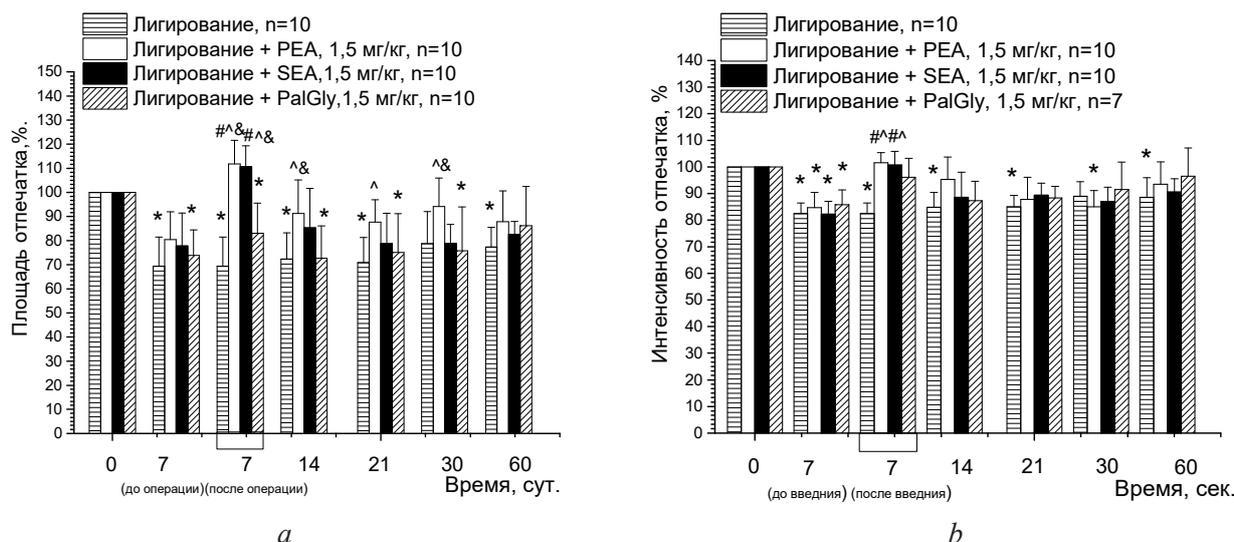


Рис. 5. Изменение площади (а) и интенсивности (б) отпечатка ипсилатеральной конечности у крыс с периферической нейропатией после внутрив брюшинного введения FAA (PEA, SEA и PalGly) в дозе 1,5 мг/кг. Скобкой отмечено время введения веществ. Достоверность различий ($p < 0,05$):

* – по сравнению со значениями до операции, # – по сравнению со значениями на 7-е сутки до введения, ^ – по сравнению с контрольной группой, & – по сравнению с группой Лигирование + PalGly

Fig. 5. Change in area (a) and intensity (b) of the ipsilateral limb print in rats with peripheral neuropathy after intraperitoneal injection of FAA (PEA, SEA, and PalGly) at a dose of 1.5 mg/kg. The administration time of substances is marked with a bracket. Significance of differences ($p < 0.05$): * – compared to the values before surgery, # – compared to the values on the 7th day before injection, ^ – compared to the control group, & – compared to the Ligation + PalGly group

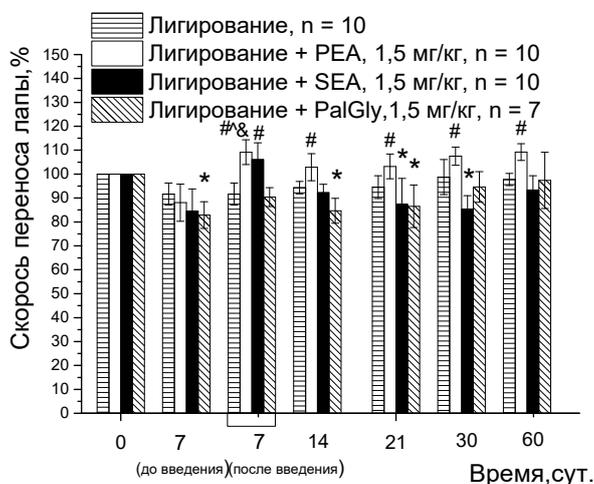


Рис. 6. Изменение скорости переноса ипсилатеральной конечности у крыс с периферической нейропатией после внутрив брюшинного введения FAA (PEA, SEA и PalGly) в дозе 1,5 мг/кг. Скобкой отмечено время введения веществ. Достоверность различий ($p < 0,05$): * – по сравнению со значениями до операции, # – по сравнению со значениями на 7-е сутки, ^ – по сравнению с контрольной группой, & – по сравнению с группой Лигирование + PalGly

Fig. 6. Change in the transfer speed of the ipsilateral limb print in rats with peripheral neuropathy after intraperitoneal injection of FAA (PEA, SEA, and PalGly) at a dose of 1.5 mg/kg. The administration time of substances is marked with a bracket. Significance of differences ($p < 0.05$): * – compared to the values before surgery, # – compared to the values on the 7th day before injection, ^ – compared to the control group, & – compared to the Ligation + PalGly group

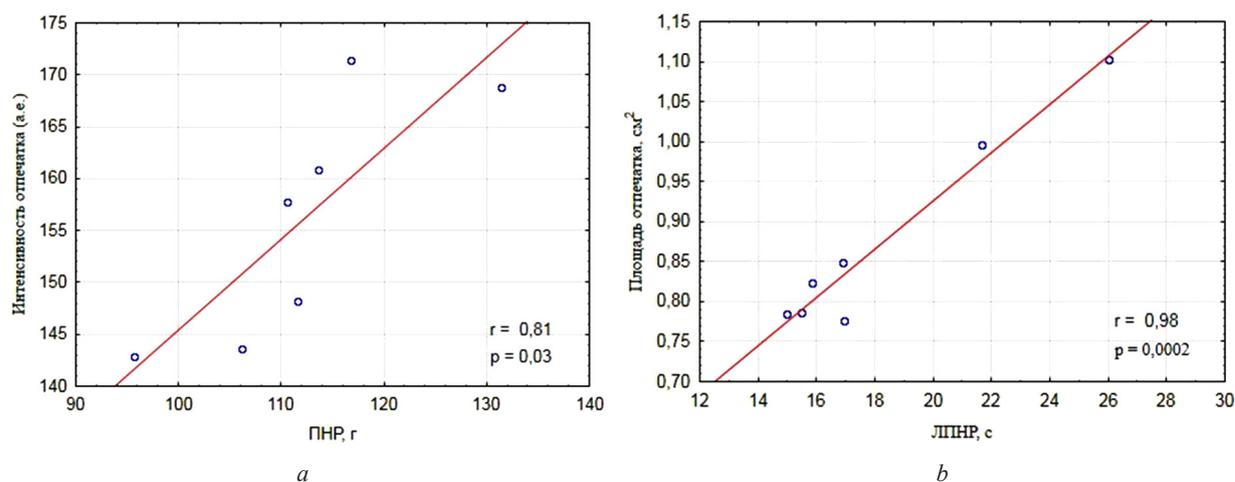
Согласно приведенным выше данным, однократное введение экспериментальным животным с периферической мононейропатией PEA, SEA либо PalGly в дозе 1,5 мг/кг на 7-е сутки исследования ослабляло выраженность ноцицептивной гипералгезии уже через 60 мин после инъекции. Для оценки согласованности изменений ноцицептивной чувствительности параметров походки были рассчитаны коэффициенты корреляции Спирмэна (табл. 3).

Таблица 3. Сводная таблица коэффициентов корреляции у крыс с периферической нейропатией

Table 3. Summary table of the correlation coefficients in rats with peripheral neuropathy

Показатель	Группа	PEA	SEA	PalGly
Площадь отпечатка	1	0,61	0,73	0,95*
	2	0,42	0,98*	0,95*
Интенсивность отпечатка	1	0,81*	0,87*	0,96*
	2	0,80*	0,83*	0,92*
Скорость переноса лапы	1	0,37	0,77*	0,84*
	2	0,02	0,91*	0,77*

Примечание. Группы сравнения: 1 – ПНР, 2 – ЛПНР. * – $p < 0,05$ по сравнению с группой сравнения.

Рис. 7. Корреляционное поле для групп Лигирование + SEA (a) и Лигирование + PalGly (b) ($p < 0,05$)Fig. 7. Correlation field for the groups of Ligation + SEA (a) and Ligation + PalGly (b) ($p < 0,05$)

Установлена положительная корреляционная связь во всех экспериментальных группах. При этом, согласно корреляционному коэффициенту Спирмена, наиболее сильная связь отмечена в группах Лигирование + SEA и Лигирование + PalGly (рис. 7).

Таким образом, полученные коэффициенты корреляции показывают наличие статистической взаимосвязи между изменениями параметров ноцицептивных реакций и показателями походки крыс.

Заключение. В результате проведенного исследования установлено, что введение интактным крысам одного из амидов жирных кислот (PEA, SEA или PalGly) приводит к антиноцицептивному действию, о чем свидетельствует достоверное повышение значений ПНР и ЛПНР. При регистрации показателей походки установлено, что SEA больше влияет на изменение интенсивности отпечатка конечностей экспериментальных животных, а PalGly – на скорость пробега крыс.

Инъекция одного из FAA (PEA, SEA или PalGly) крысам на фоне гипералгезии, вызванной лигированием седалищного нерва, оказывала выраженное анальгезирующее действие, что подтверждает статистически значимое увеличение порога и латентного периода ноцицептивной реакции. Схожий результат зафиксирован при регистрации паттернов походки, а именно: повышение значений интенсивности и площади отпечатка, а также скорости переноса конечности после введения исследуемых веществ. Однако, согласно полученным данным, PEA и SEA более эффективны при купировании ноцицептивной чувствительности при нейропатической боли и восстановлении параметров походки, чем PalGly.

Изучение влияния курсового применения исследуемых соединений и их производных, в том числе механизмов формирования антиноцицептивного эффекта при их участии, требует дальнейших исследований в этом направлении.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Ткачева, О. Н. Нарушения походки в пожилом и старческом возрасте: метод. рекомендации / О. Н. Ткачева. – М. : Прометей, 2019. – 48 с.
2. Оценка антиноцицептивного действия амидов пальмитиновой кислоты / Т. Б. Мелик-Касумов [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2016. – Т. 15, № 4. – С. 25–31.
3. Чайка, А. В. Методы экспериментального доклинического тестирования анальгетического действия различных факторов на лабораторных крысах и мышах / А. В. Чайка, И. В. Черетаев, Д. Р. Хусаинов // Уч. записки Крымск. фед. ун-та им. В. И. Вернадского. Сер. биол. и хим. – 2015. – Т. 67, № 1. – С. 161–173.
4. Ezzili, C. Fatty acid amide signaling molecule / C. Ezzili, K. Otrubova, D. L. Boger // Bioorg. Med. Chem. Lett. – 2010. – Vol. 20, N 20. – P. 5959–5968. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.08.048>
5. Effect of palmitoylethanolamide on inflammatory and neuropathic pain in rats / T.-K. Seol [et al.] // Korean J. Anesthesiol. – 2017. – Vol. 70, N 5. – P. 561–566. <https://doi.org/10.4097/kjae.2017.70.5.561>
6. Влияние производных жирных кислот, обладающих каннабимиметическим действием, на латентный период ноцицептивного рефлекса у крыс при моделировании острой и нейропатической боли / А. Ю. Молчанова [и др.] // Белорусские лекарства: материалы междунар. науч.-практ. конф. Минск, 27–28 нояб. 2014 г. / Ин-т биоорг. химии НАН Беларусі. – Минск, 2014. – С. 145–147.
7. Молчанова, А. Ю. Эндоканнабиноидная система: физиология, патофизиология, терапевтический потенциал / А. Ю. Молчанова. – Минск : Беларус. навука, 2015. – 211 с.
8. Антиноцицептивный эффект системного введения пальмитоилэтананоламида, стеариолэтананоламида и диклофенака у крыс с экспериментальным нейрогенным болевым синдромом / А. Ю. Молчанова [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2018. – Т. 15, № 3. – С. 331–338.
9. Anandamide vehicles: a comparative study / V. López-Miranda [et al.] // Eur. J. Pharmacol. – 2004. – Vol. 505, N 1–3. – P. 151–161. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2004.10.017>
10. Polysorbate 80: pharmacological study / R. K. Varma [et al.] // Arzneimittel-forschung. – 1985. – Vol. 35, N 5. – P. 804–808.
11. Об утверждении ветеринарно-санитарных правил по приему, уходу и вскрытию подопытных животных в вивариях научно-исследовательских институтов, станциях, лабораториях, учебных заведениях, а также в питомниках [Электронный ресурс]: постановление М-ва сельск. х-ва и продовольствия Респ. Беларусь, 21 мая 2010 г., № 36 // Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь. – Режим доступа: <https://pravo.by/document/?guid=3961&p0=W210p0118>. – Дата доступа: 22.09.2022.
12. The influence of rat strain on the development of neuropathic pain and comorbid anxiety-depressive behavior after nerve injury / S. Hestehave [et al.] // Sci. Reports. – 2020. – Vol. 10, N 1. – Art. 20981. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77640-8>
13. Evaluating gait and locomotion in rodents with the CatWalk / J. M. Garrick [et al.] // Cur. Prot. – 2021. – Vol. 1, N 8. – P. e220. <https://doi.org/10.1002/cpz1.220>
14. Gait analysis correlates mechanical hyperalgesia in a model of streptozotocin-induced diabetic neuropathy: A CatWalk dynamic motor function study / W. F. Vieira [et al.] // Neurosci. Lett. – 2020. – Vol. 736. – Art. 135253. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2020.135253>
15. Use of the CatWalk gait analysis system to assess functional recovery in rodent models of peripheral nerve injury – a systematic review / J. Heinzel [et al.] // Neurosci. Methods. – 2020. – Vol. 345. – Art. 108889. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2020.108889>

References

1. Tkacheva O. N. *Gait disorders in the elderly and senile age. Methodological recommendations*. Moscow, Prometei Publ., 2019. 48 p. (in Russian).
2. Melik-Kasumov T. B., Pavlyut' T. O., Zhavoronok I. P., Antipova O. A., Pekhtereva E. I., Vasil'kevich A. I., Kisel' M. A., Molchanova A. Yu. Assessment of antinociceptive effects of palmitic acid amides. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2016, vol. 15, no. 4, pp. 25–31 (in Russian).
3. Chaika A. V., Cheretaev I. V., Khusainov D. R. Methods of experimental preclinical testing of analgesic effects of various factors on laboratory rats and mice. *Uchenye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta imeni V. I. Vernadskogo. Biologiya. Khimiya* [Scientific notes of the Crimean Federal University named after V. I. Vernadsky. Biology. Chemistry], 2015, vol. 67, no. 1, pp. 161–173 (in Russian).
4. Ezzili C., Otrubova K., Boger D. Fatty acid amide signaling molecule. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2010, vol. 20, no. 20, pp. 5959–5968. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.08.048>
5. Seol T.-K., Lee W., Park S., Kim K. N., Kim T. Y., Oh Y. N., Jun J. H. Effect of palmitoylethanolamide on inflammatory and neuropathic pain in rats. *Korean Journal of Anesthesiology*, 2017, vol. 70, no. 5, pp. 561–566. <https://doi.org/10.4097/kjae.2017.70.5.561>
6. Molchanova A. Yu., Zhavoronok I. P., Targonskaya E. I., Antipova O. A., Pavlyut' T. O., Melik-Kasumov T. B., Ablomeiko A. C., Timakhovich T. G., Sharko O. L., Kisel' M. A. The effect of fatty acid derivatives having a cannabimimetic effect on the latent period of the nociceptive reflex in rats when modeling acute and neuropathic pain. *Belorusskie lekarstva: materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Minsk, 27–28 noyabrya 2014 goda)* [Belarusian medicines:

proceedings of the International scientific and practical conference (Minsk, November 27–28, 2014)]. Minsk, 2014, pp. 145–147 (in Russian).

7. Molchanova A. Yu. *Endocannabinoid system: physiology, pathophysiology, therapeutic potential*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2015. 211 p. (in Russian).

8. Molchanova A. Yu., Zhavoronok I. P., Pekhtereva E. I., Antipova O. A., Melik-Kasumov T. B., Pavlyut' T. O., Vasil'kevich A. I., Kisel' M. A. Antinociceptive effect of systemic administration of palmitoylethanolamide, stearoylethanolamide and diclofenac in rats with experimental neurogenic pain syndrome. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2018, vol. 15, no. 3, pp. 331–338 (in Russian).

9. López-Miranda V., Herradón E., Dannert M. T., Alsasua A., Martín M. I. Anandamide vehicles: a comparative study. *European Journal of Pharmacology*, 2004, vol. 505, no. 1–3, pp. 151–161. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2004.10.017>

10. Varma R. K., Kaushal R., Junnarkar A. Y., Thomas G. P., Naidu M. U., Singh P. P., Tripathi R. M., Shridhar D. R. Polysorbate 80: pharmacological study. *Arzneimittel-forschung*, 1985, vol. 35, no. 5, pp. 804–808.

11. On the approval of veterinary and sanitary rules for the reception, care and autopsy of experimental animals in vivariums of research institutes, stations, laboratories, educational institutions, as well as in nurseries: Resolution of the Ministry of Agriculture and Food of the Republic of Belarus, May 21, 2010, N 36. *National Legal Internet Portal of the Republic of Belarus*. Available at: <https://pravo.by/document/?guid=3961&p0=W210p0118> (accessed 22.09.2022) (in Russian).

12. Hestehave S., Abelson K. S. P., Pedersen T. B., Finn D. P., Andersson D. R., Munro G. The influence of rat strain of the development of neuropathic pain and comorbid anxiety-depressive behavior after nerve injury. *Scientific Reports*, 2020, vol. 10, no. 1, art. 20981. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77640-8>

13. Garrik J. M., Costa L. G., Cole T. B., Marsillach J. Evaluating gait and locomotion in rodents with the CatWalk. *Current Protocols*, 2021, vol. 1, no. 8, p. e220. <https://doi.org/10.1002/cpz1.220>

14. Vieira W. F., Malange K. F., de Magalhães S. F., Dos Santos G. G., de Oliveira A. L. R., da Cruz-Höfling M. A., Parada C. A. Gait analysis correlates mechanical hyperalgesia in a model of streptozotocin-induced diabetic neuropathy: A CatWalk dynamic motor function study. *Neuroscience Letters*, 2020, vol. 736, art. 135253. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2020.135253>

15. Heinzl J., Längle G., Oberhauser V., Hausner T., Kolbenschlager J., Prahm C., Grillari J., Hercher D. Use of the CatWalk gait analysis system to assess functional recovery in rodent models of peripheral nerve injury – a systematic review. *Neuroscience Methods*, 2020, vol. 345, art. 108889. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2020.108889>

Информация об авторах

Доронькина Анастасия Сергеевна – аспирант, мл. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: doronkina_nastasya1995@mail.ru

Михальчук Александр Леонидович – канд. хим. наук, вед. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Академика Купревича, 5/2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: lipmal@iboch.by

Губкин Сергей Владимирович – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, директор. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: goubkin@yandex.ru

Молчанова Алла Юрьевна – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: alla@fizio.bas-net.by

Богдан Василий Генрихович – д-р мед. наук, профессор, академик-секретарь отделения медицинских наук НАН Беларуси (пр-т Независимости, 66, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: medic@presidium.bas-net.by

Information about the authors

Anastasya S. Doronkina – Postgraduate student, Junior Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: doronkina_nastasya1995@mail.ru

Alexander L. Mikhailchuk – Ph. D. (Chem.), Leading Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Akademik Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lipmal@iboch.by

Sergey V. Goubkin – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, Director. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: goubkin@yandex.ru

Alla Ju. Molchanova – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: alla@fizio.bas-net.by

Vasily G. Bogdan – D. Sc. (Med.), Professor, Academician-Secretary of the Department of Medical Sciences of the National Academy of Sciences of Belarus (66, Nezavisimosti Ave., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: medic@presidium.bas-net.by

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616-099-092.4:616.36-002:661.722:612.127.4:159.944.4

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-4-375-380>

Поступила в редакцию 17.01.2022

Received 17.01.2022

В. В. Лобанова, Ф. И. Висмонт

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

ЗНАЧИМОСТЬ АКТИВНОСТИ АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ И МОНООКСИДА АЗОТА В ПРОЦЕССАХ ДЕТОКСИКАЦИИ И РАЗВИТИЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА У КРЫС В УСЛОВИЯХ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ РАЗЛИЧНОЙ ТЯЖЕСТИ

Аннотация. Современная медицина стоит перед проблемой неуклонного роста алкогольной патологии. А как известно, заболеваемость и смертность при регулярном употреблении алкогольных напитков связана с токсическим воздействием этанола на важнейшие органы человека и в первую очередь на печень. К настоящему времени накопилось достаточное количество фактов, свидетельствующих о значимости аргиназы печени и монооксида азота (NO) в процессах жизнедеятельности в норме и при патологии.

Целью исследования было выяснение значимости аргиназы печени и монооксида азота в процессах детоксикации и развития оксидативного стресса у крыс при хронической этаноловой интоксикации различной тяжести.

В опытах на крысах с использованием современных физиологических, биохимических методов исследования и фармакологического подхода было установлено, что в изменении детоксикационной функции печени и развитии оксидативного стресса, индуцированных хронической интоксикацией этанолом, участвуют аргиназа печени и монооксид азота. Направленность и выраженность изменений активности аргиназы и детоксикационной функции печени при хронической алкоголизации зависит от тяжести хронической алкогольной интоксикации. Под влиянием ежедневного интрагастрального введения в течение 60 дней 30 %-ного водного раствора этанола (3,5 г 92 %-ного этанола на 1 кг массы тела) у животных в условиях развития окислительного стресса угнетается активность аргиназы и детоксикационной функции печени, а введение 10 %-ного водного раствора этанола (1,0 г 92 %-ного этанола на 1 кг массы тела) в течение 2 мес. приводит к повышению активности аргиназы печени и процессов детоксикации. Действие в организме блокатора NO-синтазы метилового эфира N^G-нитро-L-аргинина ослабляет, а ингибитора аргиназы N^o-гидрокси-нор-L-аргинина способствует развитию характерных изменений в процессах детоксикации и перекисного окисления липидов в печени при хронической алкогольной интоксикации, вызываемой интрагастральным введением этанола в дозе 3,5 г/кг в течение 60 дней.

Ключевые слова: хроническая этаноловая интоксикация, детоксикация, аргиназа печени, перекисное окисление липидов, монооксид азота

Для цитирования: Лобанова, В. В. Значимость активности аргиназы печени и монооксида азота в процессах детоксикации и развития оксидативного стресса у крыс в условиях алкогольной интоксикации различной тяжести / В. В. Лобанова, Ф. И. Висмонт // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2022. – Т. 19, № 4. – С. 375–380. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-4-375-380>

Valeria V. Lobanova, Frantishk I. Vismont

Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

SIGNIFICANCE OF THE LIVER ARGINASE ACTIVITY AND NITROGEN MONOXIDE IN THE DETOXIFICATION PROCESSES AND DEVELOPMENT OF OXIDATIVE STRESS IN RATS UNDER ALCOHOLIC INTOXICATION OF DIFFERENT SEVERITY

Abstract. Modern medicine faces the problem of the steady growth of alcoholic pathology. And as you know, morbidity and mortality with regular consumption of alcoholic beverages is associated with the toxic effects of ethanol on the most important human organs and, first of all, the liver. To date, a sufficient number of facts have accumulated indicating the importance of liver arginase and nitrogen monoxide (NO) in vital processes in health and disease.

The aim of the study was to elucidate the significance of liver arginase activity and nitrogen monoxide in the detoxification processes and the development of oxidative stress in rats with chronic ethanol intoxication of different severity.

In experiments on rats using modern physiological, biochemical research methods and a pharmacological approach, it was found that liver arginase and nitrogen monoxide participate in changes in liver detoxification function and the development of oxidative stress induced by chronic ethanol intoxication. The direction and severity of changes in arginase activity and liver detoxification function during chronic alcoholism depends on the severity of chronic alcohol intoxication. Under the influence of daily intragastric administration for 60 days, a 30 % aqueous solution of ethanol (3.5 g 92 % ethanol per kg

of body weight) in animals under conditions of development of oxidative stress inhibited the activity of liver arginase and detoxification function but and the introduction of a 10 % aqueous solution of ethanol (1.0 g 92 % ethanol per kg of body weight) within 2 months leads to an increase in the activity of liver arginase and detoxification processes. The action in the body of the NO-synthase blocker methyl ester N^G-nitro-L-arginine weakens, and the arginase inhibitor N^ω-hydroxy-nor-L-arginine contributes to the development of characteristic changes in the processes of detoxification and lipid peroxidation in the liver during chronic alcohol intoxication caused by intragastric the introduction of ethanol at a dose of 3.5 g/kg for 60 days.

Keywords: chronic ethanol intoxication, detoxification, liver arginase, lipid peroxidation, nitrogen monoxide

For citation: Lobanova V. V., Vismont F. I. Significance of the liver arginase activity and nitrogen monoxide in the detoxification processes and development of oxidative stress in rats under alcoholic intoxication of different severity. *Vestsi Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2022, vol. 19, no. 4, pp. 375–380 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-4-375-380>

Введение. Современная медицина стоит перед проблемой неуклонного роста алкогольной патологии, приводящей к сокращению продолжительности жизни и отрицательно сказывающейся на состоянии здоровья.

Как известно, заболеваемость и смертность при регулярном потреблении алкогольных напитков связаны с токсическим воздействием этанола на важнейшие органы человека и в первую очередь на печень [1].

Биохимические проявления токсического действия этанола на организм сложны и многообразны. Многочисленные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что токсические метаболиты, активация свободнорадикальных процессов, процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) вносят весомый вклад в повреждение печени, вызываемое этанолом [2–4]. К настоящему времени накопилось достаточное количество фактов, свидетельствующих о значимости аргиназы печени в процессах жизнедеятельности в норме и при патологии [5–7]. Учитывая, что активность аргиназы печени лимитирует доступность L-аргинина для NO-синтазы [8, 9], были основания полагать, что ее активность будет сказываться на синтезе монооксида азота (NO), который играет важную роль в процессах жизнедеятельности, в частности в механизмах детоксикации [10]. Однако исследования с целью выяснения значимости аргиназы печени и NO в процессах детоксикации у крыс при хронической алкоголизации различной тяжести не проводились.

Цель исследования – выяснить значимость активности аргиназы печени и монооксида азота в процессах детоксикации и развития оксидативного стресса у крыс в условиях алкогольной интоксикации различной тяжести.

Задачи исследования:

изучить влияние хронической этаноловой интоксикации различной тяжести на процессы детоксикации, ПОЛ в крови и печени и на температуру тела у крыс;

определить уровень нитратов/нитритов в плазме крови экспериментальных животных в условиях хронической этаноловой интоксикации различной тяжести;

выяснить особенности процессов детоксикации и ПОЛ в крови и печени крыс при хронической этаноловой интоксикации различной тяжести в условиях угнетения активности аргиназы печени;

выяснить особенности процессов детоксикации и ПОЛ в крови и печени крыс при хронической этаноловой интоксикации различной тяжести в условиях угнетения активности L-аргинин-NO системы.

Материалы и методы исследования. Опыты выполнены на взрослых ненаркотизированных белых крысах-самцах массой 180–220 г.

Модель хронической алкогольной интоксикации воспроизводили на животных путем интрагастрального введения этанола. Одна группа животных получала ежедневно интрагастрально 10 %-ный водный раствор этанола, а другая – 30 %-ный (из расчета 1,0 и 3,5 г 92 %-ного этанола на 1 кг массы тела животного соответственно) в течение 60 дней. Активность аргиназы печени определяли спектрофотометрически [11]. Продукцию NO оценивали по суммарному уровню в плазме крови нитратов/нитритов (NO₃⁻/NO₂⁻) [12].

О детоксикационной функции печени, процессах детоксикации судили по продолжительности наркотического сна (ПНС), степени токсичности крови (СТК) и содержанию в плазме крови «средних молекул» (СМ). ПНС (гексенал 100 мг/кг внутривнутрибрюшинно) оценивали по времени

нахождения животных в положении на боку. Содержание в крови СМ оценивали с помощью метода кислотного-этанольного осаждения, разработанного В. М. Моиним с соавт. [13], а для определения СТК использовали способ, предложенный О. А. Радьковой с соавт. [14]. О тяжести повреждения печени судили по активности в плазме крови аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ). Активность АлАТ и АсАТ в плазме крови определяли колориметрически с помощью динитрофенилгидразинового метода [15].

Активность процессов ПОЛ в крови и печени оценивали по содержанию в них таких продуктов, как малоновый диальдегид (МДА), диеновые конъюгаты (ДК), основания Шиффа (ОШ). Концентрацию МДА, ДК и ОШ определяли спектрофотометрическим методом М. Mihara, М. Uchiyama [16] в модификации В. А. Костюка с соавт. [17] и В. L. Fletcher с соавт. [18] соответственно.

Ректальную температуру измеряли электротермометром ТПЭМ-1. Декапитацию производили через 1 ч после последнего введения этанола (опыт) или физиологического раствора (контроль).

Все эксперименты выполнены в соответствии с этическими нормами обращения с лабораторными животными. Полученные цифровые данные обработаны общепринятыми методами вариационной биологической статистики с помощью критерия Стьюдента. Все данные представлены в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего арифметического ($\bar{X} \pm S_x$). Достоверность результатов учитывали при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. В опытах на крысах выявлено, что ежедневное интрагастральное введение животным 30 %-ного водного раствора этанола (3,5 г 92 %-ного этанола на 1 кг массы тела) в течение 60 дней приводило к угнетению детоксикационной функции печени, что проявлялось повышением СТК на 57,8 % ($p < 0,05$, $n = 10$), уровня СМ в плазме крови на 38,5 % ($p < 0,05$, $n = 10$) и увеличением ПНС на 23,8 % ($p < 0,05$, $n = 12$). Содержание СМ в плазме крови, СТК и ПНС в контрольной группе животных (ежедневное интрагастральное введение физраствора в течение 2 мес., $n = 10$) составили соответственно $0,69 \pm 0,012$ г/л, $1,3 \pm 0,11$ ед. и $27,8 \pm 3,22$ мин. Активность аргиназы печени в этих условиях снижалась на 54,7 % ($p < 0,05$, $n = 8$) и составляла $2,5 \pm 0,27$ мкмоль мочевины/г сырой ткани·ч. Активность АлАТ и АсАТ, важнейших показателей тяжести поражения печени, в крови алкоголизованных животных повышалась по сравнению с соответствующим контролем на 488,5 % ($p < 0,05$, $n = 8$) и 196,3 % ($p < 0,05$, $n = 8$) и составляла $2,71 \pm 0,13$ и $1,77 \pm 0,16$ мккат/л соответственно. Ректальная температура снижалась (через 60 дней от начала эксперимента) на $1,1 \pm 0,14$ °С ($p < 0,05$, $n = 20$). Интрагастральное введение крысам ($n = 8$) этанола через 60 дней алкоголизации приводило к повышению в плазме крови уровня $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ (конечных продуктов деградации NO) на 79,1 % ($p < 0,01$) – до $11,02 \pm 1,34$ мкмоль/л.

Опыты показали, что в этих условиях в крови и печени крыс повышается содержание продуктов ПОЛ по сравнению с таковым у животных контрольной группы. Обнаружено, что действие этанола (3,5 г 92 %-ного этанола на 1 кг массы тела) в организме животных ($n = 8$) в течение 60 дней сопровождается повышением в плазме крови уровней ДК, МДА и ОШ на 38,9 % ($p < 0,05$), 59,1 % ($p < 0,05$) и 50,7 % ($p < 0,05$) соответственно. В печени содержание ДК возрастало на 29,3 % ($p < 0,05$), МДА – на 36,3 % ($p < 0,05$), ОШ – на 23,3 % ($p < 0,05$). У крыс контрольной группы (физраствор интрагастрально ежедневно 60 дней, $n = 8$) содержаний ДК, МДА и ОШ в плазме крови составляло соответственно $0,59 \pm 0,051$ D233/мл, $0,71 \pm 0,058$ мкмоль/мл и $5,4 \pm 0,52$ ЕД/мл, а в печени – $14,5 \pm 1,38$ D233/г ткани, $17,1 \pm 0,71$ мкмоль/г ткани и $136,4 \pm 13,5$ ЕД/г ткани.

Хроническая алкоголизация животных этанолом в дозе 1,0 г/кг массы тела в течение 60 дней приводила к повышению активности аргиназы и детоксикационной функции печени и не сопровождалась достоверными изменениями температуры тела и уровня $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ в плазме крови. При этом СТК понижалась на 27,1 % ($p < 0,05$, $n = 9$), уровень СМ в плазме крови – на 19,7 % ($p < 0,05$, $n = 9$), а ПНС – на 20,8 % ($p < 0,05$, $n = 10$). Активность аргиназы печени в этих условиях повышалась на 30,5 % ($p < 0,05$, $n = 8$) – до $6,0 \pm 0,51$ мкмоль мочевины/г сырой ткани·ч. Содержание продуктов ПОЛ, активность АлАТ и АсАТ в крови алкоголизованных животных достоверно не изменялись по сравнению с соответствующим контролем, хотя имели тенденцию к повышению.

Обнаружено, что в условиях депрессии аргиназы печени, вызванной ежедневным внутрибрюшинным введением в течение 2 мес. крысам ($n = 10$) ингибитора аргиназы N^ω-гидрокси-нор-L-аргинина (nor-NOHA) фирмы BACHEM (Германия) в дозе 10 мг/кг, действие этанола (в дозе 3,5 г/кг массы тела) сопровождается более значимым угнетением процессов детоксикации и более выраженным повышением уровня NO₃⁻/NO₂⁻ в плазме, а также содержания продуктов ПОЛ в крови и печени.

Установлено, что у алкоголизованных животных в условиях угнетения аргиназы печени nor-NOHA значения основных показателей печеночной детоксикации (СМ в плазме крови, степень ее токсичности, ПНС) были выше по сравнению с контрольными (физраствор внутрибрюшинно 1 раз в день в течение 60 дней и этанол интрагастрально ежедневно в течение 2 мес.) на 29,3 % ($p < 0,05$, $n = 7$), 21,6 % ($p < 0,05$, $n = 8$) и 34,7 % ($p < 0,05$, $n = 8$) соответственно. Обнаружено также, что действие этанола (3,5 г 92 %-ного этанола на 1 кг массы тела) в организме у животных ($n = 7$), получивших nor-NOHA, сопровождается повышением (по сравнению с животными контрольной группы) в плазме крови уровней ДК, МДА и ОШ на 56,0 % ($p < 0,05$), 81,1 % ($p < 0,05$) и 72,6 % ($p < 0,05$) соответственно. В печени содержание ДК возрастало на 44,7 % ($p < 0,05$), МДА – на 61,3 % ($p < 0,05$), ОШ – на 39,7 % ($p < 0,05$). У крыс контрольной группы (физраствор интрагастрально ежедневно в течение 60 дней и хроническая алкоголизация) ($n = 8$) содержание ДК, МДА и ОШ в плазме крови составляло $0,91 \pm 0,062$ ΔД233/мл, $1,22 \pm 0,091$ мкМоль/мл и $8,4 \pm 0,69$ ЕД/мл, а в ткани печени – $19,0 \pm 1,63$ ΔД233/г ткани, $24,0 \pm 0,93$ мкМоль/г ткани $164,3 \pm 15,6$ ЕД/г ткани соответственно.

Выявлено, что действие в организме крыс ($n = 9$) блокатора NO-синтазы метилового эфира N^G-нитро-L-аргинина фирмы ACROS ORGANICS (США) (ежедневное внутрибрюшинное введение в течение 60 дней) в дозе 25 мг/кг ослабляет токсическое действие этанола (в дозе 3,5 г/кг массы тела) на печень. Установлено, что действие этанола у крыс в условиях предварительной инъекции L-NAME (за 30 мин до интрагастрального введения животным этанола в течение 60 сут) по сравнению с контрольной группой животных (внутрибрюшинное введение физраствора и хроническая алкоголизация) сопровождалось менее выраженными изменениями процессов детоксикации и содержания продуктов ПОЛ в крови и печени животных, а также менее значимым повышением уровней АлАТ, АсАТ и NO₃⁻/NO₂⁻ в плазме крови. ПНС, уровень СМ в плазме крови и СТК у крыс ($n = 9$), подвергшихся хронической алкоголизации, по сравнению с животными контрольной группы были ниже на 24,6 % ($p < 0,05$), 31,8 % ($p < 0,05$) и 29,2 % ($p < 0,05$) соответственно. Активность АлАТ и АсАТ плазмы крови крыс, подвергшихся хронической алкоголизации в условиях блокады в организме животных NO-синтазы, по сравнению с животными контрольной группы была ниже соответственно на 37,5 % ($p < 0,05$, $n = 7$) и 48,8 % ($p < 0,05$, $n = 7$), а содержание NO₃⁻/NO₂⁻ – на 59,3 % ($p < 0,05$, $n = 8$).

Обнаружено, что количество ДК в печени при хронической этаноловой интоксикации (3,5 г 92 %-ного этанола на 1 кг массы тела ежедневно в течение 60 дней) у крыс ($n = 8$), предварительно получивших L-NAME, по сравнению с животными контрольной группы было меньше на 38,5 % ($p < 0,05$), а в плазме крови – на 29,7 % ($p < 0,05$). Концентрация МДА в печени в этих условиях снижалась на 22,5 % ($p < 0,05$), в плазме крови – на 30,3 % ($p < 0,05$). Уровень ОШ снижался в печени и в плазме крови соответственно на 50,5 % ($p < 0,05$) и 36,9 % ($p < 0,05$).

Заключение. В изменениях детоксикационной функции печени и развитии оксидативного стресса, индуцированных хронической интоксикацией этанолом, участвует аргиназа печени и монооксид азота. Направленность и выраженность изменений активности аргиназы и детоксикационной функции печени при хронической алкоголизации зависит от тяжести хронической алкогольной интоксикации. Под влиянием ежедневного интрагастрального введения в течение 60 дней этанола в дозе 3,5 г/кг массы тела животных в условиях развития окислительного стресса угнетается активность аргиназы и детоксикационной функции печени, а введение этанола в дозе 1,0 г/кг массы тела в течение 2 мес. приводит к повышению активности аргиназы печени и процессов детоксикации. Действие в организме блокатора NO-синтазы метилового эфира N^G-нитро-L-аргинина ослабляет, а ингибитора аргиназы N^ω-гидрокси-нор-L-аргинина способствует развитию характерных изменений детоксикационной функции печени и процессов ПОЛ

в крови и печени при хронической алкогольной интоксикации, вызываемой интрагастральным введением 30 %-ного водного раствора этанола из расчета 3,5 г 92 %-ного этанола на 1 кг массы тела в течение 60 дней.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Буко, В. У. Метаболические последствия алкогольной интоксикации / В. У. Буко, О. Я. Лукивская, А. М. Хоха. – Минск : Белорус. наука, 2005. – 207 с.
2. Albano, E. Alcohol, oxidative stress and free radical damage / E. Albano // Proc. Nutr. Soc. – 2006. – Vol. 65, N 3. – P. 278–290.
3. Bailey, S. M. Contribution of mitochondria to oxidative stress associated with alcoholic liver disease / S. M. Bailey, C. C. Cunningham // Free Rad. Biol. Med. – 2002. – Vol. 32, N 1. – P. 11–16. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(01\)00769-9](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(01)00769-9)
4. Cederbaum, A. I. Introduction-serial review: Alcohol, oxidative stress and cell injury / A. I. Cederbaum // Free Rad. Biol. Med. – 2001. – Vol. 31, N 12. – P. 1524–1526. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(01\)00741-9](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(01)00741-9)
5. Méndez, J. D. Spermine increases arginase activity in the liver after carbon tetrachloride-induced hepatic injury in Long-Evans rats / J. D. Méndez, R. de Haro Hernández, V. A. Conejo // Biomed. Pharmacother. – 2006. – Vol. 60, N 2. – P. 82–85. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2005.09.003>
6. Висмонт, А. Ф. Роль аргиназы печени в процессах детоксикации и ее участие в механизмах регуляции температуры тела при бактериальной эндотоксинемии / А. Ф. Висмонт, Л. М. Лобанок // Докл. НАН Беларуси. – 2011. – Т. 55, № 2. – С. 83–87.
7. Трапезникова, С. С. Активность аргиназы различных тканей крысы при алкогольной интоксикации / С. С. Трапезникова, В. М. Гуртовенко, Д. Г. Навасарджянц // Вопр. мед. химии. – 1983. – Т. 29, № 4. – С. 95–98.
8. Hallemeesch, M. M. Reduced arginine availability and nitric oxide production / M. M. Hallemeesch, W. H. Lamers, N. E. Deutz // Clin. Nutr. – 2002. – Vol. 21, N 4. – P. 273–279. <https://doi.org/10.1054/clnu.2002.0571>
9. Lorzynski, G. In hepatocytes the regulation of NOS-2 activity at physiological L-arginine levels suggests a close link to the urea cycle / G. Lorzynski, C. V. Suschek, V. Kolb-Bachoten // Nitric Oxide. – 2006. – Vol. 14, N 4. – P. 300–308. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2005.11.009>
10. Тэйлор, Б. С. Индуцибельная синтаза оксида азота в печени: регуляция и функции / Б. С. Тэйлор, Л. Х. Аларсон, Т. Р. Биллиар // Биохимия. – 1998. – Т. 63, № 7. – С. 905–923.
11. Geyer, J. W. Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates / J. W. Geyer, D. Dabich // Anal. Biochem. – 1971. – Vol. 39, N 2. – P. 412–417. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(71\)90431-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90431-3)
12. Nitrite and nitrate determinations in plasma: A critical evaluation / H. Moshage [et al.] // Clin. Chem. – 1995. – Vol. 41, N 6, pt. 1. – P. 892–896.
13. Способ определения веществ группы средних молекул в биологических жидкостях: а. с. 1520445 СССР, VRB F 01 № 33/50. / В. М. Моин [и др.]. – № 4323421/28-14; заявлено 02.11.87; опубл. 07.11.89 // Открытия. Изобретения. – 1989. – № 41. – С. 415.
14. Способ определения токсичности биологических жидкостей: а. с. 1146570 СССР, МКИ б ОI № 1/28 / О. А. Радькова [и др.]. – № 3458007/28-13; заявлено 18.06.84; опубл. 23.03.85 // Открытия. Изобретения. – 1985. – № 41. – С. 415.
15. Камышников, В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : МЕДпресс-информ, 2004. – 911 с.
16. Mihara, M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test / M. Mihara, M. Uchiyama // Anal. Biochem. – 1978. – Vol. 86, N 1. – P. 271–278. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(78\)90342-1](https://doi.org/10.1016/0003-2697(78)90342-1)
17. Костюк, В. А. Спектрофотометрическое определение диеновых конъюгатов / В. А. Костюк, А. И. Потапович, Е. Ф. Лунец // Вопр. мед. химии. – 1984. – № 4. – С. 125–127.
18. Fletcher, B. L. Measurement of fluorescent lipid peroxidation products in biological systems and tissues / B. L. Fletcher, C. L. Dillard, A. L. Tappel // Anal. Biochem. – 1973. – Vol. 52, N 1. – P. 1–9. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(73\)90327-8](https://doi.org/10.1016/0003-2697(73)90327-8)

References

1. Buko V. U., Lukivskaya O. Ya., Khokha A. M. *Metabolic effects of alcohol intoxication*. Minsk, Belorusskaya nauka Publ., 2005. 207 p. (in Russian).
2. Albano E. Alcohol, oxidative stress and free radical damage. *Proceedings of the Nutrition Society*, 2006, vol. 65, no. 3, pp. 278–290.
3. Bailey S. M., Cunningham C. C. Contribution of mitochondria to oxidative stress associated with alcoholic liver disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 2002, vol. 32, no. 1, pp. 11–16. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(01\)00769-9](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(01)00769-9)
4. Cederbaum A. I. Introduction-serial review: Alcohol, oxidative stress and cell injury. *Free Radical Biology and Medicine*, 2001, no. 31, no. 12, pp. 1524–1526. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(01\)00741-9](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(01)00741-9)
5. Méndez J. D., de Haro Hernández R., Conejo V. A. Spermine increases arginase activity in the liver after carbon tetrachloride-induced hepatic injury in Long-Evans rats. *Biomedical Pharmacotherapy*, 2006, vol. 60, no. 2, pp. 82–85. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2005.09.003>

6. Vismont A. F., Lobanok L. M. The role of arginase in liver detoxification process and its participation in the mechanisms of regulation of body temperature with bacterial endotoxemia. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2011, vol. 55, no. 2, pp. 83–87 (in Russian).
7. Trapeznikova S. S., Gurtovenko V. M., Navasardiyants D. G. Arginase activity of rat different tissues in alcohol intoxication. *Voprosy meditsinskoi khimii* [Problems of medical chemistry], 1983, vol. 29, no. 4, pp. 95–98 (in Russian).
8. Hallemesch M. M., Lamers W. H., Deutz N. E. Reduced arginine availability and nitric oxide production. *Clinical Nutrition*, 2002, vol. 21, no. 4, pp. 273–279. <https://doi.org/10.1054/clnu.2002.0571>
9. Lerzynski G., Suschek C.V., Kolb-Bachoten V. In hepatocytes the regulation of NOS-2 activity at physiological L-arginine levels suggests a close link to the urea cycle. *Nitric Oxide*, 2006, vol. 14, no. 4, pp. 300–308. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2005.11.009>
10. Teylor B. S., Alarson L. Ch., Billiar T. R. Inducible nitric oxide synthase in the liver: regulation and function. *Biokhimiya* [Biochemistry], 1998, vol. 63, no. 7, pp. 905–923 (in Russian).
11. Geyer J. W., Dabich D. Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates. *Analytical Biochemistry*, 1971, vol. 39, no. 2, pp. 412–417. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(71\)90431-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90431-3)
12. Moshage H., Kok B., Huizenga J. R., Jansen P. L. Nitrite and nitrate determinations in plasma: A critical evaluation. *Clinical Chemistry*, 1995, vol. 41, no. 6, pt. 1, pp. 892–896.
13. Moin V. M., Nikolaichik V. V., Kirkovskii V. V., Lobacheva G. A., Mazur L. I. The method for determining the group of substances of middle molecules in biological fluids. A. s. 1520445 SSSR, VRB F 01 no. 33/50. *Otkrytiya. Izobreteniya* [Discoveries. Inventions], 1987, no. 41. 415 p. (in Russian).
14. Rad'kova O. A., Boyarinov G. A., Balishina I. N., Krylov K. V. A method for determining the toxicity of biological fluids. A. s. 1146570 SSSR, MKI b O1 no. 1/28. *Otkrytiya. Izobreteniya* [Discoveries. Inventions], 1985, no. 11. 616 p. (in Russian).
15. Kamyshnikov V. S. *Handbook of Clinical Biochemical Research and Laboratory Diagnostics. 2nd ed.* Moscow, MEDpress-inform Publ., 2004. 911 p. (in Russian).
16. Mihara M., Uchiyama T. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Analytical Biochemistry*, 1978, vol. 86, no. 1, pp. 271–278. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(78\)90342-1](https://doi.org/10.1016/0003-2697(78)90342-1)
17. Kostyuk V. A., Potapovich A. I., Lunets E. F. Spectrophotometric determination of diene conjugates. *Voprosy meditsinskoi khimii* [Problems of medical chemistry], 1984, no. 4, pp. 125–127 (in Russian).
18. Fletcher B. L., Dillard C. L., Tappel A. L. Measurement of fluorescent lipid peroxidation products in biological systems and tissues. *Analytical Biochemistry*, 1973, vol. 52, no. 1, pp. 1–9. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(73\)90327-8](https://doi.org/10.1016/0003-2697(73)90327-8)

Информация об авторах

Лобанова Валерия Валерьевна – ассистент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: patfiz@bsmu.by

Висмонт Франтишек Иванович – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: patfiz@bsmu.by

Information about the authors

Valeria V. Lobanova – Assistant. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave, 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: patfiz@bsmu.by

Frantishek I. Vismont – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: patfiz@bsmu.by

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 613.6-056.43:614.833.5

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-4-381-390>

Поступила в редакцию 16.05.2022

Received 16.05.2022

В. В. Шевляков¹, В. А. Филонюк²

¹*Научно-практический центр гигиены, Минск, Республика Беларусь*

²*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь*

ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ИНТЕГРАЛЬНАЯ ОЦЕНКА СТЕПЕНИ АЛЛЕРГООПАСНОСТИ УСЛОВИЙ ТРУДА РАБОТНИКОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ОРГАНИЧЕСКИХ АЭРОЗОЛЕЙ

Аннотация. Целью работы являлась гигиеническая интегральная оценка степени аллергоопасности условий труда работников при воздействии промышленных аэрозолей биологической природы на основе апробации подходов и критериев, разработанных ранее для производственных химических аллергенов.

В результате изучения особенностей условий труда работников различных профессий, подвергающихся профессиональному воздействию промышленных аэрозолей разной биологической природы, с использованием критериев количественной оценки аллергоопасности факторов производственной среды условия их труда были отнесены в основном к высокой или умеренной степени аллергоопасности. У работающих в данных условиях установлены значительная частота и выраженность сдвигов показателей различных звеньев системы иммунитета и формирование в организме аллергических реакций смешанного типа на белково-антигенные комплексы органической пыли, обуславливающих распространенность нарушений здоровья преимущественно аллергического характера, нарастающих со стажем, что подтверждает потенциальный риск развития у работников профессиональных аллергических заболеваний (с вероятностью до 30 %) и возрастания уровня производственно обусловленной иммунозависимой патологии.

Интегральная оценка аллергоопасности условий труда контактирующих с промышленными аллергенами работников различных сфер производства, выявление приоритетных производственных факторов в их формировании позволяют целенаправленно и с большей эффективностью осуществлять комплекс мер технического и медицинского характера по профилактике профессиональных аллергических и производственно обусловленных заболеваний.

Ключевые слова: промышленные аэрозоли биологической природы, условия труда и состояние здоровья работников, оценка степени аллергоопасности работ, риск развития профессиональной аллергопатологии

Для цитирования: Шевляков, В. В. Гигиеническая интегральная оценка степени аллергоопасности условий труда работников при воздействии органических аэрозолей / В. В. Шевляков, В. А. Филонюк // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2022. – Т. 19, № 4. – С. 381–390. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-4-381-390>

Vitaly V. Shevlyakov¹, Vasyl A. Filanyuk²

¹*Scientific and Practical Centre of Hygiene, Minsk, Republic of Belarus*

²*Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

HYGIENIC INTEGRAL ASSESSMENT OF THE ALLERGY HAZARD DEGREE OF THE WORKING CONDITIONS FOR EMPLOYEES EXPOSED TO ORGANIC AEROSOLS

Abstract. In the early 2000s, we substantiated the allergy hazard criteria of the working conditions for employees who are in contact with chemical allergens (sensitizing ability degree, exposure intensity, and entry route into the body, combined nature of toxicant and allergen effects, combined exposure to harmful factors of physical nature) that were quantified separately and totally depending on their significance in the formation of professional allergic pathology. On this basis, an integral assessment scale of the allergy hazard degree of the working conditions in production and use of chemical allergens was developed. This shows 4 corresponding allergy hazard degrees of work (slight, moderate, high and extremely dangerous), probable levels of occupational health disorders in employees and the risk for developing occupational allergic pathology.

The aim of this work was a hygienic integral assessment of the degree of allergy hazard of employees working under the influence of industrial aerosols of biological nature using the approved approaches and the criteria previously developed for industrial chemical allergens.

The article proves the possibility of using the above criteria for hygienic integral assessment of the allergy hazard degree of work performed under the influence of organic aerosols. This is the result of Belarusian scientist-hygienists who developed and implemented the scientific concept and modern methodology of experimental hygienic regulation of the different-origin

industrial organic dust content in the air of the working area according to the leading harmful allergic effect on the body of the protein-antigenic complex (PAC) of dust, including the original methods for obtaining soluble high-molecular PAC from dust samples, an objective assessment of the degree of their sensitizing ability and the class of allergy hazard.

The analysis of the results on the characteristics of the working conditions for different-profession employees exposed to industrial aerosols of different biological nature with the use of the criteria for quantitative assessment of the allergy hazard of industrial environment factors substantiates their assignment mainly to a high or moderate degree of allergy hazard. For employees working under these conditions, a significant frequency and a severity of shifts in the indicators of various immune system components and the development of mixed-type allergic reactions to protein-antigenic complexes of organic dust have been established, which determines the prevalence of health disorders of predominantly allergic nature, increasing with age. This confirms a potential risk of developing occupational allergic diseases (with a probability of up to 30 %) and an increase in the production-related immune-dependent pathology level.

The use of the system of social and hygienic monitoring of integral assessment of the allergy hazard degree of working conditions for employees in different production fields exposed to industrial allergens and the identification of priority production factors in their formation allow a targeted and more efficient implementation of a set of technical and medical measures to prevent occupational allergic and production-related diseases.

Keywords: industrial aerosols of biological nature, working conditions and health status of workers, assessment of allergy hazard degree of work, risk of developing occupational allergic pathology

For citation: Shevlyakov V. V., Filanyuk V. Hygienic integral assessment of the allergy hazard degree of the working conditions for employees exposed to organic aerosols. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk* = *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2022, vol. 19, no. 4, pp. 381–390 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-4-381-390>

Введение. Основное внимание в общей системе контроля и профилактики вредного влияния факторов производственной среды на здоровье работников уделяется социально-гигиеническому мониторингу. Одним из главных аспектов эффективного его проведения является гигиеническая классификация условий труда работников, основывающаяся на установлении степени отклонения параметров вредных факторов производственной среды и трудовой деятельности от гигиенических нормативов и отнесении условий труда по установленным критериям к определенному классу вредности и опасности [1]. Приведенные в классификации подходы включают в том числе критерии дифференцированной классификационной оценки степени вредности нормированных факторов химической и биологической природы, обладающих аллергическим действием на организм, однако они не позволяют провести интегральную оценку степени аллергоопасности условий труда работников, поскольку не в полной мере учитывают особенности специфического вредного действия на организм промышленных аллергенов.

Изучение особенностей условий труда на различных производствах позволило нам в зависимости от выраженности аллергизирующих и сочетанных производственных факторов, их соответствия распространенности и характеру нарушений здоровья работников обосновать критерии оценки степени аллергоопасности условий труда [2]. К этим критериям отнесены: сенсibilизирующая активность, интенсивность воздействия, путь поступления (ингаляционный, эпидермальный, комплексный), комбинированный характер воздействия смеси химических веществ-аллергенов (носящий чаще всего характер потенцирования аллергенных эффектов), а также их комбинированное действие с токсикантами и сочетанное воздействие с вредными факторами физической природы (неблагоприятный микроклимат, шум и др.), которые могут непосредственно неспецифически изменять иммунологическую реактивность и/или способствовать усилению проникновения аллергена в организм.

Сформулированные критерии аллергоопасности производственных вредных факторов в зависимости от значимости в формировании аллергопатологии и других производственно обусловленных иммунопатологических состояний были количественно (в баллах) оценены с помощью математических моделей как отдельно, так и в совокупности. Исходя из обобщенной критериальной количественной оценки производственных факторов была разработана дифференцированная шкала интегральной оценки степени аллергоопасности условий труда при производстве и применении промышленных аллергенов, в которой приведены соответствующие четырем степеням аллергоопасности работ вероятностные уровни формирования нарушений здоровья работников и риска развития профессиональной аллергопатологии (табл. 1) [2].

Т а б л и ц а 1. Шкала інтэгральнай ацэнкі ступені алергаопаснасці ўмоў труда

T a b l e 1. Integral assessment scale of the allergy hazard degree of working conditions

Степень алергаопаснасці работ	Обобщенный показатель алергаопаснасці, баллы	Вероятностный уровень нарушений здоровья работающих и риска развития профессиональных аллергических заболеваний (ПАЗ)
1 малоопасная	2,1–5,0	Функциональное напряжение иммунитета, возрастание иммунопатологических состояний (ИПС) и общих иммунозависимых заболеваний Потенциальный риск развития ПАЗ (вероятность до 3 %) с появлением начальных признаков и легких форм
2 умеренно опасная	5,1–7,0	Функциональные нарушения иммунитета, повышенные уровни производственно обусловленных ИПС и заболеваний Повышенный риск развития ПАЗ (вероятность до 10 %)
3 высокоопасная	7,1–9,0	Деадаптационные сдвиги в иммунитете, высокие уровни производственно обусловленных ИПС и общих иммунозависимых заболеваний Высокий риск развития ПАЗ (вероятность до 30 %)
4 чрезвычайно опасная	9,1 и более	Очень высокий уровень объективных и субъективных нарушений здоровья по ИПС и общим заболеваниям Чрезвычайно высокий риск развития ПАЗ (вероятность более 30 %), в том числе системных аллергозов и тяжелых клинических форм

Приведенные критерии разрабатывались в отношении производственных химических веществ, для которых в 1990-е годы была полностью сформирована методология оценки и классифицирования их аллергенной активности и опасности, обоснованы предельно допустимые концентрации в воздухе рабочей зоны (ПДКврз). Использование их для изучения на многочисленных предприятиях особенностей условий труда работающих в контакте с химическими аллергенами позволило определить конкретную направленность разрабатываемых профилактических мероприятий по эффективному устранению или минимизации наиболее существенных алергаопасных производственных факторов. Однако для оценки промышленных веществ биологической природы указанные подходы и критерии не были обоснованы, поскольку действовавшие ранее ПДКврз органических аэрозолей растительного, животного и смешанного происхождения были установлены только по критерию вредного фиброгенного действия на организм. Они не учитывали, что любая органическая пыль (ОП) содержит белковые субстанции, которые как полные антигены при ингаляционном поступлении в организм работников в повышенных концентрациях могут вызывать гипериммунный ответ с формированием аллергических реакций [3].

Исходя из актуальности проблемы, представляется целесообразным апробировать и адаптировать приведенные критерии для гигиенической оценки степени алергаопасности условий труда большого контингента работников, подвергающихся профессиональному воздействию разнообразных аэрозолей биологической природы.

Цель работы – гигиеническая интегральная оценка степени алергаопасности условий труда работающих в условиях воздействия промышленных аэрозолей биологической природы на основе использования и адаптации подходов и критериев, разработанных для промышленных химических аллергенов.

Материалы и методы исследования. Проведен анализ результатов экспериментальных исследований по определению степени сенсибилизирующей способности и класса аллергенной опасности, гигиеническому нормированию содержания в воздухе рабочей зоны разнообразных аэрозолей биологической природы, а также материалов исследований по изучению особенностей условий труда и состояния здоровья работающих в условиях воздействия разных видов органических аэрозолей на птицеводческих, животноводческих, зерноперерабатывающих, текстильных, биотехнологических и других предприятиях.

Для интерпретации этих данных с целью обоснования гигиенической интегральной оценки степени алергаопасности условий труда использовали критерии количественной оценки алергаопасности факторов производственной среды (табл. 2), приведенные в утвержденной Министерством здравоохранения Республики Беларусь инструкции [4].

Результаты и их обсуждение. Этиологическим фактором формирования ПАЗ у работающих является контакт на производстве с конкретным промышленным аллергеном. Его свойства и условия воздействия определяют главным образом скорость развития гипериммунного ответа и аллергической манифестации, выраженность и тип аллергических реакций, нозологическую форму, локализацию и тяжесть аллергического поражения. В связи с этим наиболее значимыми критериями алергоопасности производственной среды являются степень сенсibiliзирующей способности (аллергенной активности) вещества и интенсивность его воздействия (доза/концентрация) на организм работающих, которая оценивается в основном по кратности превышения ПДКврз.

Таблица 2. Критерии количественной оценки (в баллах) алергоопасности
Table 2. Criteria for quantitative assessment (in points) of the allergy hazard degree of working conditions during production and use of substance-allergens

Показатель	Критерий алергоопасности	Оценка, баллы
А	Степень алергенной активности вещества:	
	4 (слабая)	1
	3 (умеренная)	2
	2 (выраженная)	3
Б	1 (сильная)	4
	Интенсивность воздействия алергена по кратности превышения значения ПДКврз:	
	«не нормированный» (с алергенной активностью 1–3-й степени)	1
	в 1,1–3 раза	2
в 3,1–10 раз	3	
более чем в 10 раз	4	
В	Преимущественный путь поступления производственного алергена в организм работающих:	
	изолированный (ингаляционный, эпикутанный и др.)	1
	комплексный (ингаляционный + эпикутанный и др.)	1,5
Г*	Комбинированное воздействие других вредных веществ:	
	соответствие каждого вещества степени вредности:	
	3.1	1
	3.2	2
	3.3	3
3.4	4	
	отношение суммы баллов каждого вещества ($\sum_{\text{б}}$) к их числу (n) ($\sum_{\text{б}} : n$)	
Д*	Сочетанное воздействие физических вредных производственных факторов (температура воздуха, шум, излучение и др.):	
	по степени их вредности:	
	3.1	1
	3.2	2
	3.3	3
3.4	4	
	отношение суммы баллов каждого фактора ($\sum_{\text{б}}$) к их числу (n) ($\sum_{\text{б}} : n$)	

Примечание. Обобщенная количественная оценка алергоопасности производственной среды рассчитывается в баллах по формуле $[(A + B) \cdot V] + [(G + D) : 2]$. * – степень вредности определяется по степени отклонения параметров производственных факторов от гигиенических нормативов (кратности превышения гигиенических нормативов) согласно Санитарным нормам и правилам «Гигиеническая классификация условий труда», утвержденным постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 28 декабря 2011 г. № 211.

Использование этих критериев в отношении промышленной ОП стало возможным только в результате реализации предложенной белорусскими учеными-гигиенистами научной концепции объективного обоснования ПДКврз разных видов ОП по ведущему вредному алергическому и/или иммунотоксическому действию на организм белково-антигенного комплекса (БАК) ОП [3]. Соответственно, использование в экспериментальных исследованиях водорастворимого биологически активного комплекса с максимальным содержанием высокомолекулярных белковых и других антигенных субстанций является основой разработанной и применяемой методологии

гигиенического нормирования содержания в воздухе рабочей зоны ОП [5]. БАК получают в лабораторных условиях из образцов ОП, подобранных на производствах в зависимости от ее физико-химических свойств адекватными способами – путем экстракции в водно-солевые растворы или химической деструкции «жесткой» структуры основного вещества пыли.

Разработка унифицированных экспериментальных моделей воспроизведения и выявления сенсibilизации на морских свинках и белых мышах с использованием для внутрикожных введений стандартных сенсibilизирующих и провокационных доз полученных БАК позволила обосновать по выявляемости (частоте положительного провокационного внутрикожного теста у животных опытной группы) и выраженности симптомов гиперчувствительности замедленного типа (уровню значимости различий средних величин интегрального показателя внутрикожного тестирования в опытной и контрольной группах животных при $p < 0,05$ или $p < 0,01$ по критерию Стьюдента/Фишера и/или по X-критерию Ван-дер-Вардена) оценку степени аллергенной активности БАВ и аллергенной опасности ОП по 4 классам [5]. Причем данная классификационная оценка идентична таковой для химических производственных аллергенов.

Результаты выполненных в соответствии с принятой методологией экспериментов показали, что, как правило, БАК ОП животного и смешанного происхождения обладают сильной (1-й класс аллергенной опасности), а растительной пыли – выраженной аллергенной активностью (2-й класс). На основании установления в субхронических ингаляционных экспериментах эффективно действующих, пороговых и недействующих концентраций соответствующих БАК по ведущему вредному аллергическому действию на организм лабораторных животных обоснованы и утверждены ПДКврз 9 видов ОП животного и смешанного происхождения на уровне $0,1 \text{ мг/м}^3$ по белку и 10 видов ОП растительного происхождения на уровне $0,2 \text{ мг/м}^3$ по белку с отметкой «аллерген».

Следовательно, можно предположить, что приведенные выше критерии количественной оценки аллергоопасности условий труда работающих в контакте с химическими аллергенами могут быть использованы и для гигиенической интегральной оценки степени аллергоопасности работ, выполняемых в условиях воздействия органических аэрозолей. Приведем конкретные примеры.

В ходе исследований установлено [6], что пыль птицеводческого производства (преимущественно животного происхождения) классифицирована как сильный аллерген (согласно показателю А табл. 2, соответствует 4 баллам), средняя концентрация аэрозоля по белку в воздухе рабочей зоны птичников ($0,79 \text{ мг/м}^3$) в 7,9 раза превышала значение ПДК ($0,1 \text{ мг/м}^3$), что соответствовало оценке по показателю Б 3 баллам. Концентрации веществ, содержащихся в воздухе производственных помещений (аммиак, сероводород, формальдегид, оксид углерода и др.), не превышали значений ПДКврз. Комбинированный характер воздействия с микробным аэрозодем, установленные концентрации которого в среднем в 15,4 раза превышали значения ПДКврз и соответствовали 3-й степени 3-го класса вредности, оценивался по показателю Г в 3 балла. Параметры микроклимата и эквивалентный уровень звукового давления в производственных помещениях птицеводческого производства соответствовали 1-й степени 3-го класса, а сочетанное воздействие этих физических факторов совокупно оценивалось по показателю Д $[(1 + 1) : 2]$ в 1 балл. Следовательно, обобщенная количественная оценка всех показателей аллергоопасности производственных факторов $[(4 + 3) \cdot 1] + [(3 + 1) : 2]$ составляет 9,0 балла. По шкале интегральной оценки (см. табл. 1) это соответствует 3-й степени – высокоаллергоопасным условиям труда, что предполагает возможность формирования у птицеводов дезадаптационных сдвигов в иммунитете, высоких уровней производственно обусловленных ИПС и общих иммунозависимых заболеваний, высокий риск развития ПАЗ (вероятность составляет до 30 %) [4].

Подтверждением данного прогноза являются результаты профпатологического и клинико-лабораторного обследования птицеводов [6], позволившего выявить высокую распространенность и выраженность вторичных иммунодефицитных состояний. Последние проявлялись в виде угнетения факторов неспецифической резистентности кожи и слизистых оболочек, снижения гуморальных факторов антибактериальной защиты крови, метаболической неполноценности, дефицита и дисбаланса основных популяций и субпопуляций лимфоцитов, перенапряжения функций фагоцитарно-клеточного звена и активации гуморального. У 64,0–73,3 % обследованных

работников обнаружено формирование механизмов аллергической реакции атопического, клеточноопосредованного и/или иммунокомплексного типов на аллергены протеина кур и овальбумин, которые обуславливали высокую частоту симптомов и синдромов преимущественно аллергического и иммунопатологического генеза, особенно со стороны кожных покровов (у 23,4 %), слизистых глаз (у 27,8 %), бронхолегочной системы (у 17,1 %). А поскольку с увеличением профессионального стажа эти нарушения здоровья у птицеводов нарастали и сопровождались высокой частотой аллергологических синдромов экспозиции, элиминации и реэкспозиции (у 78,5 % обследованных), то фактически их следует отнести к производственно обусловленным ИПС и проявлениям профессиональной аллергической патологии.

Аналогичным образом оценена степень алергоопасности работы оператора расфасовочно-упаковочного автомата в условиях воздействия аэрозоля животного происхождения. Пыль сухих пищевых дрожжей обладает сильной аллергенной активностью [7] – оценка 4 балла по критериальному показателю А, уровень загрязнения воздуха рабочей зоны белковым аэрозолем (в среднем $1,24 \text{ мг/м}^3$) превышал значение ПДК ($0,1 \text{ мг/м}^3$ по белку) в 12,4 раза – оценка 4 балла по показателю Б, ингаляционный путь поступления аэрозоля в организм – оценка 1 балл по показателю В, содержание других химических или биологических вредных веществ в воздухе рабочей зоны не установлено – оценка 0 баллов по показателю Г, пониженная температура воздуха ($15,9 \text{ }^\circ\text{C}$) и шумовой фактор (84–86 дБА) соответствовали классу вредности 3.1 [8] – оценка 1 балл по показателю Д. В данном случае обобщенная количественная оценка показателей алергоопасности производственных факторов $[(4 + 4) \cdot 1] + [(0 + 1) : 2]$ составила 8,5 балла, что, согласно интегральной шкале, также соответствует 3-й степени – высокоалергоопасным условиям труда.

Схожие результаты получены и в отношении условий труда работников текстильной переработки шерстяных волокон [9]. Согласно обобщенной количественной оценке алергоопасности производственной среды, составившей 8,5 балла (БАК шерстяной пыли относится к выраженным алергенам – оценка 3 балла + кратность превышения пыли установленной ПДК_{врз} по белку более чем в 10 раз – оценка 4 балла + [сочетанное действие повышенной температуры воздуха – оценка 1 балл + шума интенсивностью 84–95 дБ – оценка 2 балла] : 2) эти условия также относятся к высокоалергоопасным.

Рассмотрим особенности условий труда работников, подвергающимся воздействию пыли растительного происхождения. Так, например, условия труда дозаторщика в комбикормовом производстве [10] характеризуются воздействием пыли комбикормов (выраженная алергенная активность – оценка 3 балла) в средневзвешенной концентрации по белку $0,92 \text{ мг/м}^3$, превышающей значение ПДК ($0,2 \text{ мг/м}^3$ по белку) в 4,6 раза – оценка 3 балла, микробного аэрозоля ($326,6 \cdot 10^3 \text{ м. кл/м}^3$) с превышением значения ПДК в 6,5 раза (степень вредности – класс 3.2) с оценкой в 2 балла, повышенной температурой воздуха ($29,9 \text{ }^\circ\text{C}$, степень вредности – класс 3.1) и эквивалентным уровнем шума (84–85 дБА, степень вредности – 3.1) с оценкой сочетанного воздействия 1 балл. Обобщенная оценка производственных факторов $[(3 + 3) \cdot 1] + [(2 + 1) : 2]$ составляет 7,5 балла, что соответствует 3-й степени – высокой алергоопасности условий труда. Причем условия труда большинства профессий работников комбикормового и кормоприготовительного производств также относятся к 3-й степени алергоопасности.

У обследованных 90 работников комбикормовых производств установлена высокая частота и выраженность сдвигов показателей различных звеньев системы иммунитета и формирование в организме (у 69,4 %) аллергических реакций на БАК комбикормовой пыли, что явилось патогенетической основой распространенных нарушений здоровья работников преимущественно аллергического характера, особенно со стороны кожных покровов (у 21,9 %), слизистых глаз и бронхо-легочной системы (у 13,3 %) [10].

Аппаратчики зерноразмольного отделения мукомольного производства подвергаются воздействию мучной пыли (выраженная степень алергенной активности – оценка 3 балла) в средневзвешенной концентрации по белку ($0,23 \text{ мг/м}^3$), превышающей значение ПДК_{врз} ($0,2 \text{ мг/м}^3$) в 1,15 раза – оценка 2 балла, повышенной температуры воздуха ($28,8 \text{ }^\circ\text{C}$ – степень вредности 3.1) и высокого уровня шума (92 дБА – степень вредности класса 3.2) [11]. Тогда обобщенная количественная оценка показателей алергоопасности производственных факторов $[(3 + 2) \cdot 1] + [(0 + 1) : 2]$

равняется 5,5 балла, а условия труда аппаратчиков-мукомолов по интегральной шкале относятся ко 2-й степени – умеренно аллергоопасной. В то же время условия труда грузчиков выбойного отделения и складов готовой мучной продукции [11] характеризуются высоким уровнем загрязнения воздуха рабочей зоны мучной пылью (средневзвешенная концентрация 2,93 мг/м³ по белку – превышение значения ПДКврз в 14,6 раза) и повышенным уровнем звукового давления (86 дБА – степень вредности класса 3.2), что по обобщенному показателю этих факторов $[(3 + 4) \cdot 1] + [(0 + 2) : 2]$, равному 8,0 балла, уже относится к высокой степени аллергоопасности.

Результаты углубленного обследования 147 работников хлебокомбинатов свидетельствуют о существенных сдвигах в иммунном статусе и развитии в их организме выраженной сенсибилизации (положительные аллергодиагностические тесты с микст-экстрактом из мучной пыли установлены у 98,0 % лиц), высокой распространенности нарушений здоровья, нарастающих со стажем работы, в том числе симптомокомплексов аллергического поражения кожных покровов (у 9,52 %), слизистых глаз (у 16,3 %), бронхо-легочной системы (у 17,7 %) [11].

Работники основных профессий производств крупяной продукции (перловой, ячневой, овсяной, гречневой) преимущественно подвергаются воздействию крупяной пыли в концентрациях от 0,23 до 1,55 мг/м³ по белку, превышающих значение ПДКврз в 1,1–7,8 раза, в сочетании с повышенными уровнями звукового давления (от 82 до 98 дБА) [12, 13], определяющими отнесение условий их труда по величинам расчетных обобщенных показателей (5,5–7,0) ко 2-й степени – умеренно аллергоопасной.

Вместе с тем работники ряда профессий подвергаются воздействию органических аэрозолей в концентрациях на уровне или несколько ниже ПДКврз, что не учитывается в количественных критериях аллергоопасности. Однако хорошо известно, что ПДКврз промышленных аллергенов не обеспечивают сохранение иммунного гомеостаза у лиц с вторичными иммунодефицитными состояниями с риском развития у них аллергической манифестации [14]. Поэтому считаем целесообразным дополнить критерий интенсивности воздействия промышленного аллергена по показателю Б (табл. 2): на уровне ПДКврз и ниже или на уровне «не нормированный» (с аллергеной активностью 1–3-й степени) – оценка 1 балл. Это позволяет более объективно оценивать степень аллергоопасности условий труда работников.

Приведенные данные убедительно подтверждают адекватность предложенных критериев для оценки степени аллергоопасности факторов производственной среды и в целом условий труда работников, подвергающихся профессиональному ингаляционному воздействию разных видов ОП. Более того, указанные критерии применимы и для интегральной оценки степени аллергоопасности труда работающих в контакте с микробными аэрозолями на предприятиях биотехнологий вследствие разработки и внедрения современной методологии экспериментального гигиенического нормирования содержания в воздухе рабочей зоны промышленных штаммов микроорганизмов-продуцентов и микробных препаратов на их основе [15]. Использование оригинальной методики оценки их аллергеной активности и опасности позволило установить, что более 2/3 изученных штаммов микроорганизмов и микробных препаратов обладают сильной или выраженной степенью сенсибилизирующей способности и квалифицируются как чрезвычайно опасные и высокоопасные промышленные аллергены [16], а большинство установленных ПДКврз микроорганизмов и микробных препаратов имеют отметку А – аллерген. Приведем следующий пример.

Штамм хлебопекарных дрожжевых грибов *Saccharomyces cerevisiae* Л153 обладает выраженной сенсибилизирующей способностью (2-й класс аллергеной опасности) [17] – оценка 3 балла по показателю А, уровень загрязнения воздуха рабочей зоны микробным аэрозолем на рабочем месте аппаратчика отделения накопления дрожжевой массы и сепарации до 970–992 КОЕ/м³ не превышал значение ПДКврз (1000 м.кл/м³) – оценка 1 балл по скорректированному показателю Б, ингаляционный путь поступления аэрозоля в организм – оценка 1 балл по показателю В, существенное содержание других химических или биологических вредных веществ в воздухе рабочей зоны не установлено – оценка 0 баллов по показателю Г, сочетание с шумовым фактором (86 дБА, степень вредности класса 3.2) [18] – оценка 2 балла по показателю Д. В данном случае обобщенная количественная оценка показателей аллергоопасности производственных факторов

$[(3 + 1) \cdot 1] + [(0 + 2) : 2]$ равна 5 баллам, что, согласно интегральной шкале, соответствует 1-й степени аллергоопасности – малоопасным условиям труда.

Таким образом, расширение возможности интегральной оценки аллергоопасности условий труда контактирующих с промышленными аллергенами работников различных сфер производства позволяет в системе социально-гигиенического мониторинга целенаправленно и с большей эффективностью осуществлять комплекс мер технического и медицинского характера по профилактике профессиональных аллергических и производственно обусловленных иммунозависимых заболеваний.

Выводы

1. Разработка современной методологии гигиенического нормирования содержания в воздухе рабочей зоны промышленных аэрозолей биологической природы, включая методы объективной оценки степени их сенсибилизирующей способности, позволяет адекватно использовать критерии количественной оценки аллергоопасности условий труда работающих в контакте с химическими аллергенами и для гигиенической интегральной оценки степени аллергоопасности работ, выполняемых в условиях воздействия органических аэрозолей.

2. Условия труда работников, подвергающихся профессиональному воздействию промышленных аэрозолей биологической природы, по интегральной оценке отнесены в основном к высокой и умеренной степени аллергоопасности, преимущественно за счет выраженности сенсибилизирующей способности белково-антигенных комплексов органической пыли и интенсивности ингаляционного воздействия аэрозолей на организм.

3. По результатам изучения в республике состояния здоровья работников, выполняющих работы высокой или умеренной степени аллергоопасности в условиях воздействия разных органических аэрозолей, у них установлены значительная частота и выраженность сдвигов показателей различных звеньев системы иммунитета, формирования в организме аллергических реакций смешанного типа, являющихся патогенетической основой распространенных и нарастающих со временем нарушений здоровья работников преимущественно аллергического характера, особенно со стороны кожных покровов, слизистых глаз и дыхательной системы, что подтверждает потенциальный риск развития у работников профессиональных аллергических заболеваний (с вероятностью до 30 %) и возрастания уровня производственно обусловленной иммунозависимой патологии.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Гигиеническая классификация условий труда : санитар. нормы и правила : утв. постановлением М-ва здравоохран. Респ. Беларусь 28 дек. 2012 г. № 211 // Гигиена труда : сб. норматив. документов / Респ. центр гигиены, эпидемиологии и обществ. здоровья, Респ. науч.-практ. центр гигиены. – Минск, 2013. – Вып. 13. – С. 4–56.
2. Шевляков, В. В. Подходы к гигиенической оценке аллергоопасности условий труда / В. В. Шевляков, Г. И. Эрм // Медицина труда и пром. экология. – 2000. – № 12. – С. 30–35.
3. Шевляков, В. В. Проблемы эколого-гигиенической безопасности при производстве и применении белокосодержащих продуктов / В. В. Шевляков, С. М. Соколов, Г. И. Эрм // Химико-биологические технологии и экологическая безопасность : материалы Междунар. науч.-практ. конф., Минск, 15–17 мая 2001 г. / редкол. : И. И. Лиштван [и др.]. – Минск, 2001. – С. 130–133.
4. Критерии гигиенической оценки степени аллергоопасности производственной среды : инструкция 2.2.5.11-11-24-2003 / М-во здравоохран. Респ. Беларусь ; разработ. : В. В. Шевляков [и др.] // Сб. офиц. документов по медицине труда и произв. санитарии / Респ. центр гигиены, эпидемиологии и обществ. здоровья, Респ. науч.-практ. центр гигиены ; под общ. ред. В. П. Филонова, С. М. Соколова. – Ч. XIII. – Минск : ПЧУП «Бизнесофсет», 2004. – С. 106–121.
5. Требования к постановке токсиколого-аллергологических исследований при гигиеническом нормировании белокосодержащих аэрозолей в воздухе рабочей зоны : метод. указания 11-11-10 РБ 02 / М-во здравоохран. Респ. Беларусь ; разработ. : В. В. Шевляков [и др.] // Сб. офиц. документов по медицине труда и произв. санитарии / Респ. центр гигиены, эпидем. и обществ. здоровья, Респ. науч.-практ. центр гигиены ; под общ. ред. В. П. Филонова, С. М. Соколова. – Ч. XIV: Промышленная токсикология. – Минск : ПЧУП «Бизнесофсет», 2004. – С. 4–49.
6. Шевляков, В. В. Медицина труда на современных птицеводческих предприятиях / В. В. Шевляков, Г. И. Эрм. – Минск : Тонпик, 2008. – 160 с.

7. Токсиколого-гигиеническая оценка аллергенной активности и опасности сухих дрожжевых грибов / С. И. Сычик [и др.] // Анализ риска здоровью. – 2018. – № 2. – С. 96–104.
8. Гигиеническая оценка загрязнения воздуха рабочей зоны в производстве сухих пищевых дрожжей / В. В. Шевляков [и др.] // Здоровье и окружающая среда : сб. материалов Междунар. науч.-практ. конф., Минск 14–15 ноября 2019 г. / редкол. : С. И. Сычик (гл. ред.), Н. В. Дудчик (зам. гл. ред.) [и др.]. – Минск : РИВШ, 2019. – С. 170–172.
9. Производственная шерстяная пыль как фактор риска аллергического поражения работников / В. В. Шевляков [и др.] // Проблемы здоровья и экологии. – 2017. – № 3 (53). – С. 55–59.
10. Шевляков, В. В. Гигиена труда работников комбикормового и кормоприготовительного производств / В. В. Шевляков, Е. В. Чернышова, В. П. Филонов. – Минск : РИВШ, 2009. – 112 с.
11. Шевляков, В. В. Особенности биологического действия и гигиенической регламентации в воздухе рабочей зоны мучной пыли / В. В. Шевляков, С. А. Ушков, В. П. Филонов. – Минск : РИВШ, 2010. – 160 с.
12. Гигиеническая оценка условий труда работников производства овсяной крупяной продукции / С. А. Ушков [и др.] // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Респ. науч.-практ. центр гигиены ; гл. ред. Л. В. Половинкин. – Минск : ГУ РНМБ, 2011. – Вып. 18. – С. 51–56.
13. Факторы производственной среды и трудовой деятельности работников производства перловой и ячневой круп / С. А. Ушков [и др.] // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Респ. науч.-практ. центр гигиены ; гл. ред. Л. В. Половинкин. – Минск : ГУ РНМБ, 2011. – Вып. 18. – С. 57–63.
14. Алексеева, О. Г. Практика гигиенического нормирования промышленных аллергенов в воздухе рабочей зоны и пути ее совершенствования / О. Г. Алексеева // Гигиена труда и проф. заболевания. – 1989. – № 1. – С. 1–4.
15. Филонюк, В. А. Методология гигиенического регламентирования микробных препаратов и разработки методик выполнения измерений содержания микроорганизмов в воздухе рабочей зоны / В. А. Филонюк, В. В. Шевляков, Н. В. Дудчик ; М-во здравоохран. Респ. Беларусь, Науч.-практ. центр гигиены. – Минск : БелНИИТ «Транстехника», 2018. – 264 с.
16. Методические подходы к определению степени сенсибилизирующей способности и аллергенной опасности микроорганизмов-продуцентов и микробных препаратов / В. В. Шевляков [и др.] // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, Науч.-практ. центр гигиены ; гл. ред. С. И. Сычик. – Минск : РНМБ, 2014. – Вып. 24. Т. 1. – С. 131–134.
17. Патогенность и сенсибилизирующая способность дрожжевых грибов штамма *Saccharomyces cerevisiae* Л153 / В. А. Филонюк [и др.] // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, Науч.-практ. центр гигиены ; гл. ред. С. И. Сычик. – Минск : РНМБ, 2017. – Вып. 27. – С. 202–205.
18. Гигиеническая оценка микробного загрязнения воздуха рабочей зоны в производстве хлебопекарных дрожжей / В. А. Филонюк [и др.] // Здоровье и окружающая среда : сб. материалов Междунар. науч.-практ. конф., Минск, 15–16 нояб. 2018 г. : в 2 т. / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, Науч.-практ. центр гигиены ; гл. ред. С. И. Сычик. – Минск : РНМБ, 2018. – Т. 1. – С. 127–130.

References

1. Hygienic classification of working conditions: nurse. norms and rules: approved. Decree of the Ministry of Health Rep. Belarus Dec. 28 2012 No. 211. *Gigiyena truda : sbornik normativnykh dokumentov* [Occupational health: a collection of regulatory documents]. Minsk, 2013, iss. 13, pp. 4–56 (in Russian).
2. Shevlyakov V. V., Erm G. I. Approaches to the hygienic assessment of the allergic hazard of working conditions. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya = Russian journal of occupational health and industrial ecology*, 2000, no. 12, pp. 30–35 (in Russian).
3. Shevlyakov V. V., Sokolov S. M., Erm G. I. Problems of ecological and hygienic safety in the production and use of protein-containing products. *Khimiko-biologicheskie tekhnologii i ekologicheskaya bezopasnost': materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Minsk, 15–17 maya 2001 goda)* [Chemical and biological technologies and environmental safety: materials of the International scientific and practical conference (Minsk, May 15–17, 2001)]. Minsk, 2001, pp. 130–133 (in Russian).
4. Criteria for hygienic assessment of the degree of allergenicity of the working environment: instruction 2.2.5.11-11-24-2003. *Sbornik ofitsial'nykh dokumentov po meditsine truda i proizvodstvennoi sanitarii* [Collection of official documents on occupational medicine and industrial sanitation]. Minsk, PCHUP “Businessofset”, 2004, pt. XIII, pp. 106–121 (in Russian).
5. Requirements for the formulation of toxicological and allergological studies during hygienic regulation of protein-containing aerosols in the air of the working area: method. instructions 11-11-10 RB 02. *Sbornik ofitsial'nykh dokumentov po meditsine truda i proizvodstvennoi sanitarii* [Collection of official documents on occupational medicine and industrial sanitation]. Minsk, PCHUP “Businessofset”, 2004, pt. XIV: Industrial toxicology, pp. 4–49 (in Russian).
6. Shevlyakov V. V., Erm G. I. *Occupational health at modern poultry enterprises*. Minsk, Tonpik Publ., 2008. 160 p. (in Russian).
7. Sychik S. I., Shevlyakov V. V., Filanyuk V., Erm G. I., Chernyshova E. V. Toxicological and hygienic assessment of allergenic activity and danger of dry yeast fungi. *Analiz riska zdorov'yu = Health risk analysis*, 2018, no. 2, pp. 96–104 (in Russian).
8. Shevlyakov V. V., Filanyuk V., Kuzovkova A. A., Zinovkina V. Yu. Hygienic assessment of air pollution in the working area in the production of dry nutritional yeast. *Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda: sbornik materialov mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (14–15 noyabrya 2019 goda, Minsk)* [Health and the environment: collection of materials

of the International scientific and practical conference (November 14–15, 2019, Minsk)]. Minsk, Republican Institute of Higher Education, 2019, pp. 170–172 (in Russian).

9. Shevlyakov V. V., Sychik S. I., Erm G. I., Grushevskaya M. A., Filanyuk V. *Industrial wool dust as a risk factor for allergic damage to worker*. *Problemy zdorov'ya i ekologii = Health and Ecology Issues*, 2017, no. 3 (53), pp. 55–59 (in Russian).

10. Shevlyakov V. V., Chernyshova E. V., Filonov V. P. *Occupational health of workers in compound feed and fodder production*. Minsk, Republican Institute of Higher Education, 2009. 112 p. (in Russian).

11. Shevlyakov V. V., Ushkov S. A., Filonov V. P. *Features of biological action and hygienic regulation in the air of the working area of flour dust*. Minsk, Republican Institute of Higher Education, 2010. 160 p. (in Russian).

12. Ushkov S. A., Shevlyakov V. V., Erm G. I., Novitskaya T. V., Arbuzov I. V., Buynitskaya A. V., Chernyshova E. V., Kozlovskaya T. V., Studenichnik T. S., Shchurskaya N. A. Hygienic assessment of working conditions for workers in the production of oatmeal products. *Zdorov'ye i okruzhayushchaya sreda: sbornik nauchnykh trudov* [Health and the environment: a collection of scientific papers]. Minsk, RNMB, 2011, iss. 18, pp. 51–56 (in Russian).

13. Ushkov S. A., Shevlyakov V. V., Erm G. I., Novitskaya T. V., Arbuzov I. V., Buynitskaya A. V. Factors of the production environment and labor activity of workers in the production of barley and barley groats. *Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda: sbornik nauchnykh trudov* [Health and environment: collection of scientific proceedings]. Minsk, RNMB, 2011, iss. 18, pp. 57–63 (in Russian).

14. Alekseeva O. G. The practice of hygienic regulation of industrial allergens in the air of the working area and ways to improve it. *Gigiyena truda i professional'nyye zabolevaniya* [Occupational hygiene and professional diseases], 1989, no. 1, pp. 1–4 (in Russian).

15. Filanyuk V., Shevlyakov V. V., Dudchik N. V. *Methodology of hygienic regulation of microbial preparations and development of methods for measuring the content of microorganisms in the air of the working area*. Minsk, Belarusian Research Institute of Transport “Transtekhnika”, 2018. 264 p. (in Russian).

16. Shevlyakov V. V., Filanyuk V., Erm G. I., Studenichnik T. S. Methodological approaches to determining the degree of sensitizing ability and allergenic danger of microorganisms-producers and microbial preparations. *Zdorov'ye i okruzhayushchaya sreda: sbornik nauchnykh trudov* [Health and environment: collection of scientific proceedings]. Minsk, RNMB, 2014, iss. 24, vol. 1, pp. 131–134 (in Russian).

17. Shevlyakov V. V., Erm G. I., Grushevskaya M. A., Zinovkina V. Yu. *Pathogenicity and sensitizing ability of yeast fungi strain Saccharomyces cerevisiae L153*. *Zdorov'ye i okruzhayushchaya sreda: sbornik nauchnykh trudov* [Health and environment: collection of scientific proceedings]. Minsk, RNMB, 2017, iss. 27, pp. 202–205 (in Russian).

18. Filanyuk V., Shevlyakov V. V., Dudchik N. V., Grishchenkova T. V., Zhabrovskaya A. I. Hygienic assessment of microbial air pollution of the working area in the production of baker's yeast. *Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda: sbornik materialov Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (15–16 noyabrya 2018 goda, Minsk)* [Health and the environment: collection of materials of the International scientific and practical conference (November 15–16, 2018, Minsk)]. Minsk, RNMB, 2018, vol. 1, pp. 127–130 (in Russian).

Информация об авторах

Шевляков Виталий Васильевич – д-р мед. наук, профессор. Научно-практический центр гигиены (ул. Академическая, 8, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: shev-vitaliy@mail.ru

Филонюк Василий Алексеевич – канд. мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, корп. 1, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: scienceprorektor@bsmu.by

Information about the authors

Vitaly V. Shevlyakov – D. Sc. (Med.), Professor. Scientific Practical Centre of Hygiene (8, Akademicheskaya Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: shev-vitaliy@mail.ru

Vasyl A. Filanyuk – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: scienceprorektor@bsmu.by

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616-06+616-006.4+579.61

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-4-391-403>

Поступила в редакцию 30.06.2022

Received 30.06.2022

Е. В. Охремчук¹, Е. Я. Скопонец², А. Э. Охремчук¹, Н. П. Кирсанова²,
А. В. Сидоренко¹, Л. Н. Валентович¹

¹Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии,
д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь

ПЕРВЫЙ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ ОПЫТ ПРОВЕДЕНИЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ФЕКАЛЬНОЙ МИКРОБИОТЫ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ КИШЕЧНОГО МИКРОБИОЦЕНОЗА У ПАЦИЕНТОВ С ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Аннотация. Впервые в Республике Беларусь проведена трансплантация фекальной микробиоты (ТФМ) двум пациентам с онкогематологическими заболеваниями с целью коррекции кишечного микробиоценоза. У обоих реципиентов ТФМ отмечался частичный клинический ответ на процедуру: колонизация кишечника микробиотой донора, положительная динамика функционирования желудочно-кишечного тракта и снижение количества полирезистентных микроорганизмов, ассоциированных с инфекционными осложнениями. Однако после возобновления химиотерапии и антибиотикотерапии положительный эффект ТФМ утрачивался. Необходимы дальнейшие исследования для повышения эффективности трансплантации фекальной микробиоты у пациентов с онкогематологическими заболеваниями.

Ключевые слова: онкогематологические заболевания, дисбиоз, фекальная бактериотерапия, кишечная микробиота, микробиом

Для цитирования: Первый в Республике Беларусь опыт проведения трансплантации фекальной микробиоты для восстановления кишечного микробиоценоза у пациентов с онкогематологическими заболеваниями / Е. В. Охремчук [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2022. – Т. 19, № 4. – С. 391–403. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-4-391-403>

Katsiaryna U. Akhremchuk¹, Katsiaryna Y. Skapavets², Artur E. Akhremchuk¹, Natallia P. Kirsanova²,
Anastasiya V. Sidarenka¹, Leonid N. Valentovich¹

¹Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

²Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology,
v. Borovliany, Minsk region, Republic of Belarus

INITIAL EXPERIENCE OF FECAL MICROBIOTA TRANSPLANTATION IN BELARUS IN PATIENTS WITH HEMATOLOGIC MALIGNANCIES AS A METHOD FOR RECOVERY OF INTESTINAL MICROBIOCENOSIS

Abstract. This article describes the first attempt of fecal microbiota transplantation for correction of gut microbiota in two patients suffering from hematologic malignancies made in the Republic of Belarus. Partial clinical response to the procedure was observed in the both patients. We detected positive changes in the gastrointestinal tract state and a decrease in the abundance of multiresistant bacteria. In addition, microorganisms from donor microbiota were observed in intestinal microbiota of the patients. However, the positive effects of fecal microbiota transplantation disappeared after re-initiation of chemotherapy and antibiotics treatment. Further research is required to improve the procedure effectiveness in patients with hematologic malignancies.

Keywords: hematologic malignancies, dysbiosis, fecal bacteriotherapy, intestinal microbiota, microbiome

For citation: Akhremchuk K. U., Skapavets K. Y., Akhremchuk A. E., Kirsanova N. P., Sidarenka A. V., Valentovich L. N. Initial experience of fecal microbiota transplantation in Belarus in patients with hematologic malignancies as a method for recovery of intestinal microbiocenosis. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk* = *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2022, vol. 19, no. 4, pp. 391–403 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-4-391-403>

Введение. Трансплантация фекальной микробиоты (ТФМ), или фекальная бактериотерапия, – один из наиболее эффективных методов восстановления кишечного микробиоценоза путем введения реципиенту донорского фекального материала. ТФМ широко применяется для лечения кишечных инфекций (в первую очередь ассоциированных с *Clostridium difficile*), воспалительных

заболеваний кишечника, синдрома раздраженного кишечника, ряда неврологических (болезнь Паркинсона, аутизм), метаболических (сахарный диабет II типа) и аутоиммунных (ревматоидный артрит) заболеваний [1–8].

Несмотря на большие надежды, возлагаемые на ТФМ как способ профилактики и терапии инфекционных осложнений, резистентных форм острой реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) у пациентов с онкогематологическими заболеваниями, она все еще редко используется у реципиентов ТГСК. Это связано с тяжелым общесоматическим состоянием таких пациентов, сильным повреждением слизистой оболочки кишечника, длительным иммунодефицитом, интенсивной химио- и антибиотикотерапией, которые, с одной стороны, в ряде случаев способствуют развитию инфекционных осложнений, а с другой стороны, могут негативно влиять на «приживание» фекального трансплантата. Тем не менее микробиота донора потенциально способна заменить мультирезистентные патогенные и условно-патогенные микроорганизмы, колонизировавшие кишечник реципиента фекальной микробиоты, и повысить эффективность контроля инфекционных осложнений после ТГСК с помощью антибиотиков. В частности, ТФМ от здорового донора с успехом использовалась для лечения острой кишечной РТПХ [6, 9–11] и терапии пациентов с интестинальной колонизацией мультирезистентной микробиотой после аллогенной ТГСК [12].

Одним из наиболее важных этапов проведения ТФМ является выбор подходящего донора биологического материала. Потенциальный донор проходит несколько этапов обследования, включая сбор анамнеза, клиническую диагностику и метагеномный анализ кишечной микробиоты [13, 14]. При выборе донора необходимо убедиться, что он не принимал антибиотики и иные антимикробные лекарственные препараты в последние 3 мес.; не принимал другие лекарства, воздействующие на микробиоту кишечника (ингибиторы протонной помпы, иммунодепрессанты, стероидные препараты, нестероидные противовоспалительные средства, аспирин, пробиотики); не принимал наркотические средства, не злоупотреблял алкоголем; не болел воспалительными заболеваниями кишечника, аутоиммунными и атопическими заболеваниями; не имел злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта; не имеет сахарного диабета, инфекционных заболеваний, констипационного и метаболического синдромов.

Обязательные клинические исследования включают: общий анализ крови с лейкоцитарной формулой; показатели креатинина, аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, билирубина; определение С-реактивного белка; диагностику Т-лимфотропного вируса человека 1-го и 2-го типа, вирусов гепатитов А, В, С, Е, ВИЧ 1-го и 2-го типа, сифилиса и целого ряда других бактериальных патогенов (в первую очередь возбудителей кишечных инфекций), гельминтов. Критерием исключения потенциальных доноров служит наличие хронических заболеваний пищеварительной, дыхательной, нервной систем, метаболических, аутоиммунных и онкологических заболеваний. Кроме того, обязательным условием при выборе является высокое биоразнообразие и определенный таксономический состав кишечной микробиоты донора. Анализы должны быть сделаны не позже 1–2 недель до проведения ТФМ [15–17].

Фекальный материал донора может быть введен реципиенту через верхние (при эзофагогастроуденоскопии, с помощью назогастрального зонда, гастростомической трубки) или нижние (при колоноскопии, установке трансэндоскопической энтеральной трубки, постановке клизмы) отделы желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Однако данные методы довольно болезненные и травматичные, а в первом случае еще высок риск нежелательных последствий, обусловленных попаданием патогенных бактерий в верхние отделы пищеварительного тракта и аспирацией донорской суспензии. Поэтому в последнее время все более широко используется энтеральная доставка биологического материала с помощью капсул. Данный способ удобен, безболезнен, решает многие психологические и эстетические проблемы ТФМ, а по эффективности не уступает другим методам доставки фекального материала. Однако прием капсул противопоказан при дисфагии, кишечной непроходимости, выраженной пищевой аллергии, терапии антибиотиками [16, 18, 19].

Первая в мире процедура ТФМ была выполнена в США в 1958 г. [1], в России – в 2016 г. [10], в Польше – в 2018 г. [20], в Беларуси, насколько нам известно, ТФМ ранее не проводилась.

Цель данной работы – апробация метода трансплантации фекальной микробиоты для коррекции кишечной микробиоты у пациентов с онкогематологическими заболеваниями.

Материалы и методы исследования. Исследование одобрено комитетом по медицинской этике Республиканского научно-практического центра детской онкологии, иммунологии и гематологии (д. Боровляны, Беларусь). Все обследуемые лица (либо родители, если участники исследования являлись несовершеннолетними) дали письменное информированное согласие на сбор и анализ образцов биоматериала и клинических данных.

Реципиенты фекальной микробиоты. ТФМ проводили пациентам, находящимся на стационарном лечении в РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии.

Реципиент 1. Пациент 18 лет с диагнозом миелодиспластический синдром (позже трансформировавшийся в острый миелоидный лейкоз (ОМЛ)), рефрактерная анемия с избытком бластов. За 4 мес. до ТФМ пациенту проведена гаплоидентичная ТГСК. Состояние пациента тяжелое, обусловлено развитием РТПХ с поражением ЖКТ, кожи и печени. Пациенту предложено пройти курс ТФМ.

Реципиент 2. Пациентка 17 лет с диагнозом ОМЛ, получавшая протокольную полихимиотерапию. Состояние тяжелое, обусловленное основным заболеванием, сопутствующим геморроем, компенсированное. Болевой синдром пациентку не беспокоил. Диурез сохранен, дефекация безболезненная, однако часто поступали жалобы на запор. Геморрагический синдром не выражен. Пациентка являлась носителем полирезистентной внутрибольничной микробиоты, по поводу чего назначена ТФМ.

Информация о производителях, дозировке и форме приема лекарственных препаратов приведена в табл. 1.

Т а б л и ц а 1. Схема приема лекарственных препаратов реципиентами фекальной микробиоты

Table 1. Treatment scheme for recipients of fecal microbiota

Пациент	Препарат	Производитель	Дозировка	Начало приема относительно ФБТ	Окончание приема относительно ФБТ	
Реципиент 1	Ко-тримоксазол р.о.	Борисовский завод медицинских препаратов, РБ	720 мг × 2 р/сут	-23	31	
	Вориконазол р.о.	Белмедпрепараты, РБ	250 мг × 2 р/сут	-23	31	
	Омепразол в/в		20 мг × 2 р/сут	-23	31	
	Урсокапс р.о.	Минскинтеркапс УП, РБ	500 мг/сут	-23	31	
	Гидрокортизон в/в	Фармак, Украина	10 мг/сут	-23	-1	
	Гептрал в/в	Эбботт, Германия	500 мг × 2р/сут	-23	31	
	Меропенем в/в	ТрайплФарм, Беларусь	1,5 г × 3 р/сут	-23	-6	
				4	14	
	Ганцикловир в/в	Белмедпрепараты, РБ	250 мг × 2 р/сут	-23	21	
	Октреотид в/в	Sun Pharma, Индия		500 мкг/сут	-23	-17
				1000 мкг/сут	-16	-
					19	31
				1200 мкг/сут	-15	0
				12	18	
				9	11	
	Октагам в/в	Octapharma, Австрия	20–25 г	-23; -20; -16; -15; -13; -12; -11; 9; 18; 20		
Месакол р.о.	Борисовский завод медицинских препаратов, РБ	400 мг/сут	-23	5		
			9	11		
Джакави р.о.	Новартис Фарма, Швейцария		30 мг/сут	-20	-16	
			20 мг/сут	-15	0	
Тейкопланин в/в	ТрайплФарм, Беларусь		400 мг/сут	-17	-10	
				5	17	

Окончание табл. 1

Пациент	Препарат	Производитель	Дозировка	Начало приема относительно ФБТ	Окончание приема относительно ФБТ	
	Медрол в/в	United Biotech pvt. Limited, Индия	90 мг/сут	-23	-18	
			225 мг/сут	-17	-13	
			180 мг/сут	-12	-8	
			150 мг/сут	-7	-3	
			105 мг/сут	-2	2	
			85 мг/сут	3	8	
			75 мг/сут	9	12	
			55 мг/сут	13	17	
			45 мг/сут	18	20	
			30 мг/сут	21	23	
	25 мг/сут	24	31			
	Граноцит в/в	Sanofi, Франция	526 мкг/сут	-10	22	
	Метоклопрамид в/в	Борисовский завод медицинских препаратов, РБ	1,5 мл × 3 р/сут	-1	0	
	Левифлоксацин в/в	Белмедпрепараты, РБ	500 мг × 2 р/сут	5	22	
	Колистин в/в	ТрайплФарм, РБ	6 млн Ед/сут	5	12	
	Цефепим в/в	Белмедпрепараты, РБ	2 г × 2 р/сут	15	26	
Реципиент 2	Меропенем в/в	Белмедпрепараты, РБ	1,5 г × 3 р/сут	-18	-10	
				29	37	
		Вориконазол р.о.		250 мг × 2 р/сут	-18	37
		Колистин в/в	ТрайплФарм, РБ	6 млн Ед/сут	-18	-10
					29	37
		Амикацин в/в	Ферейн, РБ	850 мг/сут	-18	-16
		Тейкопланин в/в	ТрайплФарм, Беларусь	400 мг/сут	-18	-11
		Лактулоза р.о.	Фармтехнология, РБ	по 1 ст. л. × 3 р/сут	-18	-8
		Ко-тримоксазол р.о.	Борисовский завод медицинских препаратов, РБ	480 мг × 2 р/сут 3 р/нед	-18	37
		Регулон р.о.	Гедеон Рихтер, Венгрия	1 таб/сут	-18	37
		Омепразол р.о.	Борисовский завод медицинских препаратов, РБ	20–40 мг/сут	-2	14
		Метоклопрамид в/в		5 мг × 2 р/сут	-2	0
		Левифлоксацин р.о.		500 мг/сут	8	25
		Аллопуринол р.о.	Борщаговский ХФЗ, Украина	400 мг/сут	11	19
		Форжект р.о.	Академфарм, РБ	20 г/сут	15	20
		Метотрексат э/л	Белмедпрепараты, РБ	12 мг/сут	11	-
		Цитозар э/л		30 мг/сут	11	-
		Преднизолон э/л		10 мг/сут	11	-
				80 мг/сут	12	16
		Лейкоцим в/в			300 мкг	30
		Флударабел р.о.	ГНУ ИБОХ НАН Беларуси, РБ	41 мг	12	16
		Цитарабин в/в	Белмедпрепараты, РБ	1370 мг	12	16
		Идарубицин в/в	Германия	10,9 мг	13	15
		Ронколейкин п/к	Ботех, РФ	1 млн 370 тыс ед. через день	18	28
		Цефепим в/в	Борисовский завод медицинских препаратов, РБ	2 г × 3 р/сут	19	28
		Урсокапс р.о.	Минскинтеркапс, РБ	750 мг/сут	20	37
		Бактериофаг синегнойной палочки р.о.	АО «НПО Микроген», Россия	20 мл × 3 р/сут	16	30
	Линезолид	Белмедпрепараты, РБ	600 мг × 2 р/сут	29	37	

Скрининг донора. Скрининг потенциальных доноров биологического материала для ТФМ проводили среди здоровых людей ($n = 31$), кишечная микробиота которых была описана нами ранее [21]. В качестве донора выбран мужчина 26 лет, не являющийся родственником реципиентов. Обследование донора включало комплекс клинических исследований, а также анализ α -разнообразия и преобладающих таксонов микроорганизмов в составе кишечной микробиоты с помощью секвенирования фрагментов гена *16S* рНК.

Подготовка капсул, содержащих фекальный материал. Забор кала в зип-пакеты объемом 1 л осуществлялся на базе РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии. К калу добавляли 100 %-ный стерильный пищевой глицерин до конечной концентрации 20 % (в массовом соотношении). Образец гомогенизировали путем перемешивания. С использованием стерильного физиологического раствора образец доводили до консистенции, позволяющей без затруднений выдавливать содержимое в капсулы через отверстие диаметром примерно 2 мм (отверстие проделывали путем отрезания уголка зип-пакета с помощью стерильного скальпеля). Конечное содержание глицерина в смеси составляло не менее 15 %. Для целевой доставки фекального материала им заполняли кислотоустойчивые капсулы DRcaps № 1 (Lonza), которые растворяются в кишечнике. Для придания большей стабильности кислотоустойчивые капсулы дополнительно помещали в твердые желатиновые капсулы Coni-snap №0 (Lonza). Наполненные капсулы хранили в стерильных полипропиленовых контейнерах при -80 °С.

Для косвенной проверки сохранения жизнеспособных микроорганизмов в капсулах при -80 °С использовали селективные среды, пригодные для роста культивируемых представителей кишечной микробиоты: тиогликолевую среду (1508, CONDA Pronadisa), агар для клостридий усиленный (1104, CONDA Pronadisa), Колумбийский агар (1087, CONDA Pronadisa). Серийные разведения фекального материала, изъятых из капсул, готовили в пептонной воде (5160, Pronadisa). Микроорганизмы культивировали в анаэробных условиях (анаэроустат и газогенерирующие пакеты AnaerocultA, Merck Millipore) при 37 °С в течение 7 дней. Выживаемость культивируемых представителей микробиоты определяли как среднее значение четырех высевов из одной биологической повторности.

Протокол проведения ТФМ. За 1 день до ТФМ реципиенту 1 проводили очистительную клизму, реципиенту 2 назначали слабительное (лактозу). Пациенты принимали капсулы, запивая небольшим количеством воды. Перед приемом капсулы выдерживали 20 мин при комнатной температуре. Курсовая доза фекального трансплантата составила 30 капсул перорально (около 15 мл биоматериала), по 10 капсул в течение 3 дней независимо от приема пищи.

Сбор образцов биоматериала для анализа таксономического состава кишечной микробиоты. Образцы кала реципиентов собирали в день -3 до ТФМ, в последний день приема капсул (0), в дни $+3$, $+7$, $+14$, $+30$ после ТФМ. Образцы немедленно замораживали при -20 °С и хранили при -80 °С.

Секвенирование ДНК и биоинформатическая обработка данных. Выделение метагеномной ДНК из образцов кала осуществляли с помощью набора NucleoSpin DNA Soil (740780, Macherey-Nagel) [22]. Подготовку библиотек для секвенирования проводили в соответствии с руководством «16S Metagenomic Sequencing Library Preparation» (Illumina), используя комплект реактивов MiSeq Reagent Kit v3 (600-cycle) (MS-102-3003, Illumina). Удаление последовательностей праймеров и объединение прочтений проводили с помощью скрипта preprocess16S (github.com/masikol/preprocess16S). Последующую обработку данных осуществляли с помощью среды программирования R при помощи конвейера dada2 (benjjneb.github.io/dada2). При таксономической классификации в качестве референса использовали тренировочный набор данных на основе базы данных Silva SSU NR99 (версия 138), форматированный для применения в dada2. Удаление предположительно контаминирующих последовательностей осуществляли с помощью библиотеки decontam (benjjneb.github.io/decontam). Для вычисления и визуализации обратного индекса Симпсона [23] использовали возможности библиотеки phyloseq (joe711.github.io/phyloseq).

Результаты и их обсуждение. В данном исследовании впервые в Республике Беларусь проведена трансплантация фекальной микробиоты двум пациентам с онкогематологическими заболеваниями с целью коррекции состава кишечного микробиоценоза.

Характеристика донора и реципиентов фекальной микробиоты. *Донор.* Донор фекального материала был клинически здоров и не имел в анамнезе хронических заболеваний. У него отмечалось высокое разнообразие кишечной микробиоты: обратный индекс Симпсона, позволяющий оценить степень доминирования одного или нескольких таксонов в микробном сообществе, составлял 25,9, что соответствует медианному значению данного индекса в группе здоровых лиц, обследованных ранее [21]. В составе кишечного микробиома донора преобладали представители семейств *Prevotellaceae*, *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae* и *Bacteroidaceae*, фрагменты ДНК которых в совокупности составляли более 80 % прочтений, полученных путем секвенирования.

Реципиент 1. За 3 дня до ТФМ (день +128 после ТГСК) состояние пациента оставалось тяжелым, без видимой отрицательной динамики. Ведущий патологический синдром – гастроэнтероколит. Пациент жаловался на сохраняющийся жидкий стул, слабость, вялость, сонливость, отечность конечностей и лица. Живот пациента вздут, мягкий, при глубокой пальпации безболезненный во всех отделах. Перистальтика ЖКТ удовлетворительная. Тошноты, рвоты не наблюдалось. Диурез без стимуляции недостаточный. Объем стула в течение 3 сут до ТФМ составлял от 1,65 до 3,95 л. Псевдомембранозный колит исключен по результатам культуральных исследований и отсутствию токсина *C. difficile*. Состав микробиоты пациента до ТФМ характеризовался крайне низким таксономическим разнообразием (обратный индекс Симпсона – 1,2). Более 98 % прочтений приходилось на ДНК представителей сем. *Enterococcaceae* (в частности, *Enterococcus faecium*), а кроме того, присутствовали представители *Streptococcaceae* (0,6 %), *Lactobacillaceae* (0,3 %), *Staphylococcaceae* (0,2 %, вид *Staphylococcus haemolyticus*) и ряд других семейств (относительная численность <0,1 % прочтений).

Реципиент 2. Состояние до ТФМ тяжелое, обусловленное основным заболеванием (ОМЛ), сопутствующим геморроем, компенсированное. До ТФМ в отделяемом из верхних дыхательных путей, ротовой полости, повреждений кожи и мягких тканей (область геморроидальных узлов) с помощью классических микробиологических методов у пациента выявлены бактерии *Pseudomonas aeruginosa*. Из повреждений кожи и мягких тканей выделены *E. faecium* и *Staphylococcus epidermidis*. В кишечной микробиоте пациента преобладали представители сем. *Lachnospiraceae* (40,1 % прочтений), их доля была близка к таковой в микробиоте донора. Представленность *Ruminococcaceae* также была схожа с таковой у донора, однако доля условно-патогенных микроорганизмов была повышена. Так, на представителей сем. *Peptostreptococcaceae* приходилось 9,4 % секвенированных фрагментов ДНК, на представителей *Enterococcaceae* и *Streptococcaceae* – 7,2 и 6,9 % соответственно, в то время как у здоровых людей доля данных семейств в совокупности не превышала 3,5 %. Кроме того, доля *Prevotellaceae* и *Bacteroidaceae* была значительно ниже, чем в микробиоте донора. Обратный индекс Симпсона до ТФМ составлял 31,3, что выше медианного значения данного индекса у здоровых людей (25,1) [22] и достаточно близко к значению данного индекса у донора (25,9).

Таким образом, до ТФМ состав микробиоты реципиента 1 значительно отличался от состава микробиоты донора, в то время как микробиоценоз кишечника реципиента 2 по наиболее представленным таксонам микроорганизмов и уровню биоразнообразия был схож с донорским.

Характеристика капсул с фекальным материалом. Каждая капсула для ТФМ содержала 0,5 мл фекального материала донора, смешанного с пищевым глицерином (конечная концентрация 15 %). Микробиологический анализ культивируемых представителей кишечной микробиоты донора, присутствующих в капсулах, подтвердил сохранность их жизнеспособности и метаболической активности в течение не менее 1 года при хранении при –80 °С (табл. 2). При этом следует отметить, что количество жизнеспособных бактерий за этот период снизилось на 1–3 порядка.

В настоящее время не выявлено достоверных различий в эффективности процедуры ТФМ при введении свежего и хранившегося в замороженном виде биологического материала донора [16, 24]. Результаты наших исследований косвенно свидетельствуют о том, что длительное хранение фекального трансплантата может приводить к снижению качественного и количественного состава содержащихся в нем микроорганизмов, и подтверждают существующие рекомендации об использовании донорского материала в течение 1 года с момента его подготовки [16, 19].

Таблица 2. Выживаемость культивируемых представителей микробиоты донора при хранении капсул с фекальным материалом (-80 °C)

Table 2. Survival capacity of cultured bacteria in fecal capsules during the storage period (-80 °C)

Высев на питательные среды	Кол-во жизнеспособных клеток бактерий в фекальном материале, КОЕ/г		
	Тиогликолевая среда	Агар для клостридий усиленный	Колумбийский агар
В день закрытия капсул	5,1·10 ⁷	2,9·10 ⁹	3,1·10 ⁹
Через 1 мес. после закрытия капсул	6,2·10 ⁷	7,2·10 ⁷	1,0·10 ⁸
Через 1 год после закрытия капсул	3,6·10 ⁶	2,7·10 ⁷	7,0·10 ⁶

Динамика микробиоты пациентов после ТФМ. Реципиент 1. В последний день приема капсул наблюдалось снижение доли *Enterococcaceae* с 98,8 % прочтений до 0,2 %, возрастание относительной численности *Prevotellaceae*, *Veillonellaceae*, *Bacteroidaceae* и *Lachnospiraceae*, характерных для микробиоты здоровых людей (рис. 1). Общее микробное разнообразие, оцениваемое с помощью обратного индекса Симпсона, возросло более чем в 2 раза. В первые дни после ТФМ отмечалась положительная динамика функционирования ЖКТ: уменьшение объема стула и сокращение количества дефекаций, к последнему дню приема капсул наблюдалась нормализация перистальтики кишечника (табл. 3). Из побочных эффектов, вызванных приемом капсул, отмечались резь и боль в животе, вздутие живота, на которые достаточно часто жалуются реципиенты фекальной микробиоты [4]. Температура тела до ТФМ и во время процедуры была в пределах нормы. Таким образом, у реципиента 1 наблюдались временные изменения микробиоты и временные клинические эффекты, характерные для первой недели после ТФМ [14].

Однако к вечеру дня +3 у пациента зафиксировано повышение температуры тела с ознобом, болезненность в области почек, выявлены инфильтративные изменения в легких. Тяжесть состояния

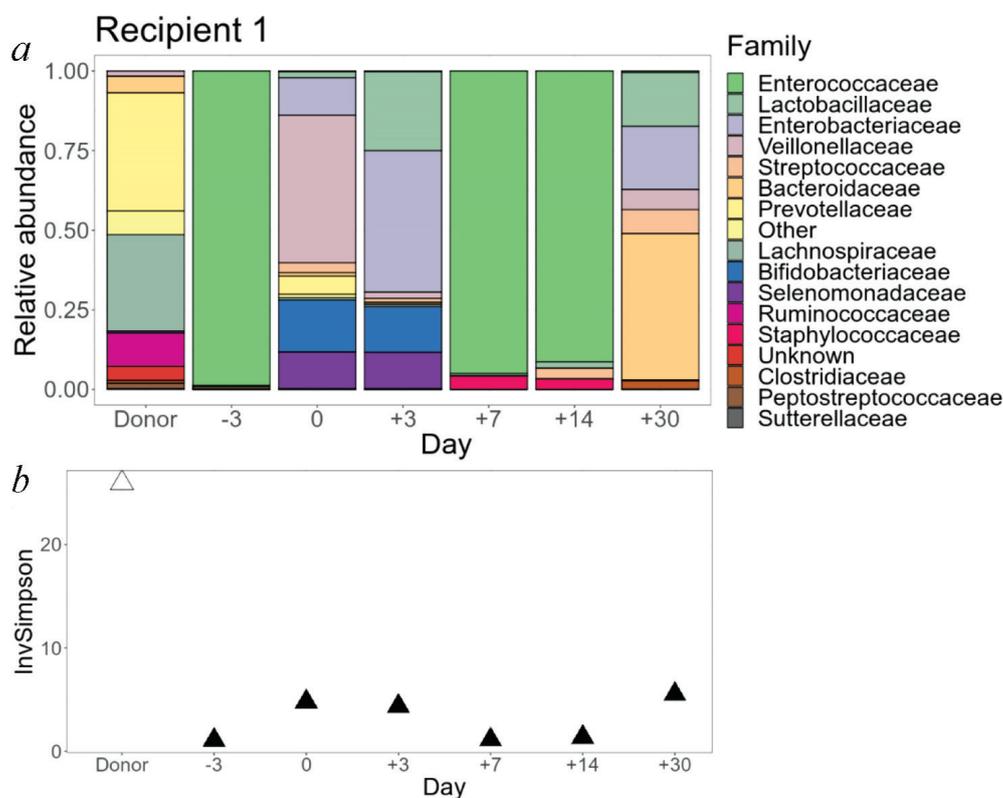


Рис. 1. Динамика таксономического состава кишечной микробиоты (a) и значений обратного индекса Симпсона (b) реципиента 1 после ТФМ

Fig. 1. Changes in taxonomic structure of gut microbiota (a) and in Inverse Simpson index (b) in recipient 1 after FMT

пациента обусловлена синдромом системного воспалительного ответа, РТПХ. Лихорадка с появлением дыхательной недостаточности, воспаление легких и впадение пациента в состояние цитопении объясняется тем, что до ТФМ пациент получал меропенем, который, по-видимому, сдерживал развитие пневмонии. Отмена антибиотикотерапии перед трансплантацией фекальной микробиоты способствовала интенсификации инфекционного процесса. В день +3 в составе микробиоты реципиента практически не детектировались таксоны, характерные для микробиоты донора, возросла доля *Bacteroidaceae* и *Lactobacillaceae*. Клиническая картина в день +5 тяжелая: состояние усугубилось за счет развития дыхательной недостаточности. Для лечения инфекционных осложнений пациенту назначена антибактериальная терапия, которая была редуцирована лишь после дня +14 (см. рис. 1). В связи с этим в дни +7 и +14 после ТФМ отмечалось снижение разнообразия микробиоты и приближение таксономического состава к наблюдавшемуся в день –3: *Enterococcaceae* составляли 95 % прочтений, на *Streptococcaceae* приходилось 4 %, на *Lactobacillaceae* и *Staphylococcaceae* (преимущественно *Staphylococcus caprae* и *S. haemolyticus*) – менее 1 %. Однако уже в день +30 в кишечной микробиоте реципиента практически отсутствовали представители *Enterococcaceae*, что может рассматриваться как положительный сдвиг. Доля сем. *Bacteroidaceae* составляла 46 %, *Lactobacillaceae* – 17, *Enterobacteriaceae* – 20, *Veillonellaceae* – 6, *Clostridiaceae* (преимущественно *Clostridium sporogenes*) – 3 %.

Таким образом, несмотря на временный клинический эффект и позитивные изменения в составе кишечного микробиоценоза в первые дни после ТФМ, за период наблюдения стабилизации кишечной микробиоты и приживления донорской микробиоты у реципиента 1 не произошло.

Т а б л и ц а 3. Динамика клинической картины реципиента 1

T a b l e 3. Dynamics of the clinical picture of recipient 1

Параметр \ День	–3			–2			–1			ТФМ (день 0)			+1	+2	+3	+4	+5				
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3			
Число дефекаций	–	–	–	–	–	–	–	–	–	8	6	4	5	2	–	–	–	–	1 (с кровью)		
Объем стула, л	2,2	1,7	4,0	2,6	1,8	–	–	–	–	1,2	1,7	1,7	2,3	1,4	–	–	–	–	–		
Перистальтика ЖКТ	Удовлетворительная; тошноты, рвоты нет						Нормальная; тошноты, рвоты нет						Вялая; тошноты, рвоты нет								
Живот	Вздут, мягкий, безболезненный при глубокой пальпации во всех отделах						Увеличен в объеме, вздут, напряжен, болезненный при пальпации во всех отделах; перитонеальные симптомы сомнительные			Более вздут, мягкий, безболезненный при глубокой пальпации во всех отделах			Менее вздут, мягкий, безболезненный при глубокой пальпации во всех отделах			Вздут, мягкий, безболезненный при глубокой пальпации во всех отделах					
С-реактивный белок	–	–	0,03	–	0,04	–	–	–	–	0,33	–	–	–	8,95	–	–	–	–	12,00		
Лейкоциты, тыс/л	1,5	1,4	0,9	0,8	0,7	–	–	–	–	0,5	0,7	1,1	1,0	0,3	–	–	–	–	0,5		
Тромбоциты, тыс/л	36	28	12	9	11	–	–	–	–	6	5	12	10	6	–	–	–	–	5		
Гемоглобин, г/л	76	73	80	74	75	–	–	–	–	88	85	87	81	73	–	–	–	–	63		
Состояние	Тяжелое, без видимой отрицательной динамики						Тяжелое, вечером жалобы на боли в животе, резкое вздутие живота, бурление в животе			Тяжелое, жалобы на проявления кишечного синдрома			Тяжелое, без отрицательной динамики; жалобы на периодическую боль в животе			Тяжелое, с отрицательной динамикой за счет появления фебрильной нейтропении			Очень тяжелое, с отрицательной динамикой за счет развития дыхательной недостаточности		

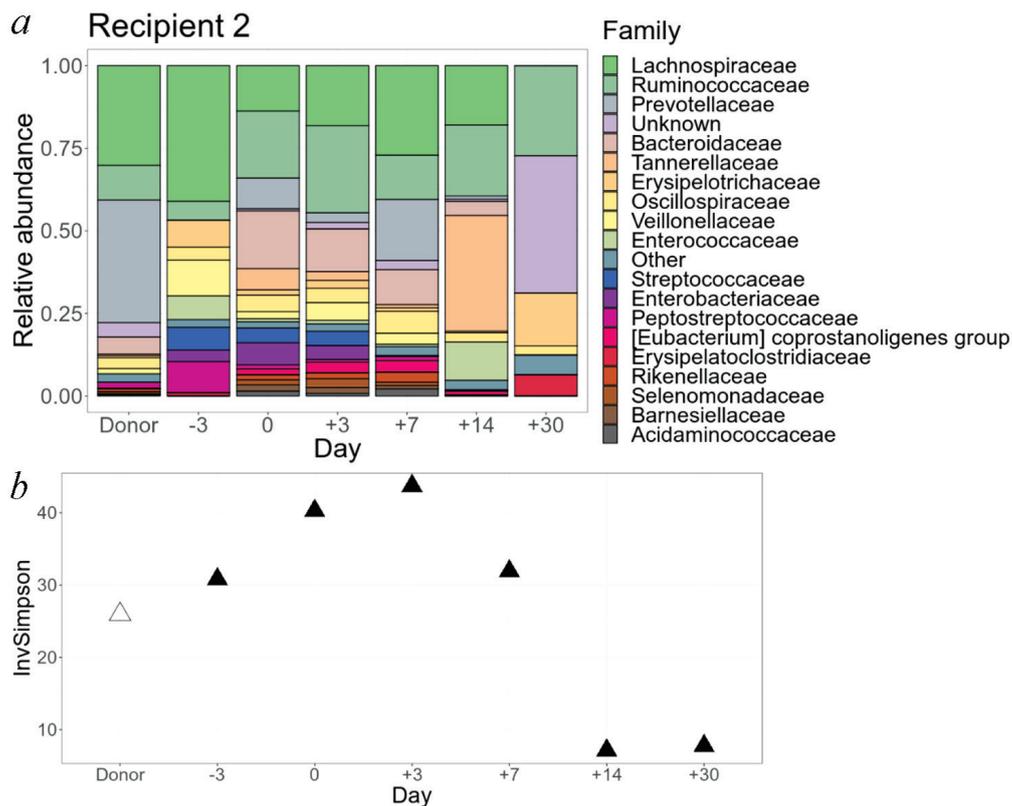


Рис. 2. Динамика таксономического состава кишечной микробиоты (a) и значений обратного индекса Симпсона реципиента 2 (b) после ТФМ

Fig. 2. Changes in taxonomic structure of gut microbiota (a) and Inverse Simpson index (b) in recipient 2 after FMT

Реципиент 2. В последний день приема капсул (день 0) в микробиоте реципиента 2 детектировались характерные для микробиоты донора таксоны микроорганизмов, присутствовавшие у реципиента до ТФМ в малых количествах (семейства *Prevotellaceae* и *Bacteroidaceae*). Возросла доля представителей сем. *Ruminococcaceae*. Происходило снижение доли семейств *Streptococcaceae*, *Peptostreptococcaceae* и *Enterococcaceae* (рис. 2). В области ануса сформировался геморроидальный узел без признаков воспаления. Во 2-й и 3-й дни приема капсул у пациента отмечались боли в животе, в связи с чем, учитывая предыдущий опыт ТФМ, был назначен метоклопрамид (табл. 4). Вздутия живота, диспепсических расстройств не наблюдалось. Температура тела до ТФМ и во время процедуры была в пределах нормы. Учитывая отсутствие роста *P. aeruginosa* в последних трех посевах из кала, было решено перевести пациента из инфекционного в онкогематологическое отделение для дальнейшего лечения. Рекомендовано начать полихимиотерапию через 11 дней после завершения ТФМ, продолжить местную терапию геморроя, наблюдение хирурга. Наибольшее таксономическое разнообразие микробиоты реципиента 2 отмечено в день +3, обратный индекс Симпсона составлял 43,5. В дни +3 и +7 доля микроорганизмов, характерных для донора, значительно не изменялась. Таким образом, этап первичных клинических эффектов достиг стадии приживания микробиоты (обычно наблюдаемый в дни 8–30 после ТФМ) [11]. В день +14 отмечено 10-кратное увеличение доли сем. *Enterococcaceae* на фоне резкого снижения общего разнообразия микробиоты. Развитие дисбиоза к дню +14 связано с возобновлением химиотерапии, после чего развился цитопенический синдром с инфекционными осложнениями: обострение хронического парапроктита, развитие целлюлита промежности, вызванного *P. aeruginosa*, двусторонняя полисегментарная пневмония. В бактериальных посевах из поврежденных кожи и мягких тканей вновь детектировались *E. faecium*, *P. aeruginosa* и *S. haemolyticus*. В связи с развитием инфекционных осложнений пациенту назначена антибактериальная терапия. На день +30 микробное разнообразие незначительно отличалось от наблюдаемого в день +14, представители *Prevotellaceae* занимали лишь 0,1 % прочтений.

Т а б л и ц а 4. Динамика клинической картины реципиента 2

T a b l e 4. Dynamics of the clinical picture of recipient 2

Параметр \ День	-4	-1	ТФМ (день 0)			+1	+3	+11	+14
			1	2	3				
Дефекация	Безболезненная						Умеренная болезненность		
Перистальтика ЖКТ	Нормальная; тошноты, рвоты нет						Диспепсические расстройства, связанные с началом химиотерапии		
Живот	Мягкий, безболезненный при глубокой пальпации во всех отделах			Мягкий, несколько болезненный в области гипогастрия, глубокой пальпации доступен			Мягкий, безболезненный при глубокой пальпации во всех отделах		
С-реактивный белок	–	1,4	–	1,9	1,6	1,6		1,7	0,4
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	2,5	2,5	–	2,1	2,2	2,5	1,7	2,2	0,7
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	61	34	–	29	29	33	30	32	41
Гемоглобин, г/л	72	81	–	78	78	92	78	85	80
Состояние	Тяжелое, компенсированное (обусловленное основным заболеванием)			Тяжелое, компенсированное; жалобы на боли в животе		Тяжелое, компенсированное; жалобы на периодические боли в животе		Тяжелое, компенсированное	

Таким образом, у реципиента 2 после ТФМ наблюдалось заселение кишечника микробиотой донора со стабилизацией состава кишечного микробиоценоза в течение первой недели, а на уровне клинических эффектов отмечалось снижение количества полирезистентных патогенных микроорганизмов, ассоциированных с развитием инфекционных осложнений. Однако после возобновления химиотерапии и антибиотикотерапии эффект ТФМ был утерян.

Заключение. Результаты данного исследования подтверждают, что ТФМ может рассматриваться как эффективный способ коррекции нарушений кишечного микробиоценоза у пациентов с онкогематологическими заболеваниями. В случае реципиента 1 отмечена временная положительная динамика состава кишечной микробиоты и функционирования ЖКТ. У реципиента 2 наблюдалось заселение кишечника микробиотой донора со стабилизацией состава кишечного микробиоценоза, а также снижение количества полирезистентных патогенных микроорганизмов, ассоциированных с развитием инфекционных осложнений. Однако, несмотря на наличие первичного клинического ответа, эффект ТФМ у обоих пациентов сохранить на длительный период не удалось в связи с возобновлением химиотерапии и антибиотикотерапии. В настоящее время получены многочисленные экспериментальные данные, свидетельствующие, что прием антибиотиков до и в первые несколько недель после ТФМ является одной из основных причин «неприживления» микроорганизмов, вводимых с фекальным материалом донора [24, 25]. Повышение эффективности трансплантации фекальной микробиоты может быть связано как с усовершенствованием самой процедуры (продолжительность курса, объем и повторность введения фекального материала и др.), так и с модификацией протоколов лечения основного заболевания в наиболее уязвимый период после ТФМ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Работа выполнена в рамках Государственной программы «Наукоёмкие технологии и техника» на 2016–2020 годы, подпрограммы «Инновационные биотехнологии – 2020» (мероприятие 67¹).

Acknowledgements. This work was supported by the government program “Science-Intensive Technologies and Equipment” for 2016–2020, subprogram “Innovative Biotechnologies-2020” (project No. 67¹).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis / B. Eiseman [et al.] // *Surgery*. – 1958. – Vol. 44, N 5. – P. 854–859.
2. Long-term follow-up of colonoscopic fecal microbiota transplant for recurrent *Clostridium difficile* infection / L. J. Brandt [et al.] // *Am. J. Gastroenterol.* – 2012. – Vol. 107, N 7. – P. 1079–1087. <https://doi.org/10.1038/ajg.2012.60>
3. Leffler, D. A. *Clostridium difficile* infection / D. A. Leffler, J. T. Lamont // *N. Engl. J. Med.* – 2015. – Vol. 372, N 16. – P. 1539–1548. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1403772>
4. Балабанцева, А. П. Трансплантация фекальной микробиоты как эффективный метод лечения кишечной патологии, некоторых метаболических и аутоиммунных заболеваний / А. П. Балабанцева, С. М. Ткач, И. Л. Клярская // *Крым. терапевт. журн.* – 2016. – № 1. – С. 12–21.
5. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile* / E. van Nood [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2013. – Vol. 368, N 5. – P. 407–415. <https://doi.org/10.1056/NEJMoal205037>
6. Fecal microbiota transplantation for patients with steroid-resistant acute graft-versus-host disease of the gut / K. Kaki-hana [et al.] // *Blood*. – 2016. – Vol. 128, N 16. – P. 2083–2088. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-05-717652>
7. Intestinal microbiota-related effects on graft-versus-host disease / Y. Shono [et al.] // *Int. J. Hematol.* – 2015. – Vol. 101, N 5. – P. 428–437. <https://doi.org/10.1007/s12185-015-1781-5>
8. Leszczyszyn, J. J. Intestinal microbiota transplant – current state of knowledge / J. J. Leszczyszyn, M. Radomski, A. M. Leszczyszyn // *Rheumatology*. – 2016. – Vol. 54, N 1. – P. 24–28. <https://doi.org/10.5114/reum.2016.58758>
9. Афанасьев, Б. В. Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей: настоящее, проблемы, перспективы / Б. В. Афанасьев, Л. С. Зубаровская, И. С. Моисеев // *Рос. журн. дет. гематологии и онкологии*. – 2015. – Т. 2, № 2. – С. 28–42.
10. Первый опыт терапии полирезистентных инфекционных осложнений, ассоциированных с *Clostridium difficile* и *Klebsiella pneumoniae*, методом трансплантации фекальной микробиоты у пациентов после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток / О. В. Голощапов [и др.] // *Инфекц. болезни*. – 2017. – Т. 15, № 3. – С. 65–74.
11. Трансплантация фекальной микробиоты при реакции «трансплантат против хозяина» у детей и взрослых: методы, клинические эффекты, безопасность / О. В. Голощапов [и др.] // *Терапевт. архив*. – 2020. – Т. 92, № 7. – С. 43–54.
12. Fecal microbiota transplantation before or after allogeneic hematopoietic transplantation in patients with hematologic malignancies carrying multidrug-resistance bacteria / G. Battipaglia [et al.] // *Haematologica, Supplement*. – 2019. – Vol. 104, N 8. – P. 1682–1688. <https://doi.org/10.3324/haematol.2018.198549>
13. Pretreatment gut microbiome predicts chemotherapy-related bloodstream infection / E. Montassier [et al.] // *Genome Medicine*. – 2016. – Vol. 8, N 1. – Art. 49. <https://doi.org/10.1186/s13073-016-0301-4>
14. Methods for improving human gut microbiome data by reducing variability through sample processing and storage of stool / M. A. Gorzelak [et al.] // *PLoS ONE*. – 2015. – Vol. 10, N 8. – P. e0134802. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134802>
15. International consensus conference on stool banking for faecal microbiota transplantation in clinical practice / G. Cammarota [et al.] // *Gut*. – 2019. – Vol. 68, N 12. – P. 2111–2121. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2019-319548>
16. Трансплантация фекальной микробиоты: критерии выбора донора, подготовки и хранения биоматериала / А. А. Якупова [и др.] // *Терапевт. архив*. – 2021. – Т. 93, № 2. – С. 215–221.
17. Strain tracking reveals the determinants of bacterial engraftment in the human gut following fecal microbiota transplantation / C. S. Smillie [et al.] // *Cell Host Microbe*. – 2018. – Vol. 23, N 2. – P. 229–240.e5. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2018.01.003>
18. Oral, frozen fecal microbiota transplant (FMT) capsules for recurrent *Clostridium difficile* infection / I. Youngster [et al.] // *BMC Medicine*. – 2016. – Vol. 14, N 1. – Art. 134. <https://doi.org/10.1186/s12916-016-0680-9>
19. OpenBiome. OpenBiome Quality Metrics. 2019. [Electronic resource]. – Mode of access: <https://static1.squarespace.com/static/50e0c29ae4b0a05702af7e6a/t/5cc2477b36a72a000152b793/1556236156464/Quality+Metrics.pdf>. – Date of access: 23.06.2022.
20. A two-week fecal microbiota transplantation course in pediatric patients with inflammatory bowel disease / K. Karolewska-Bochenek [et al.] // *Clin. Investigation* / ed. M. Pokorski. – Cham, 2017. – P. 81–87.
21. Gut microbiome of healthy people and patients with hematological malignancies in Belarus / K. V. Akhremchuk [et al.] // *Microbiol. Indep. Res. J. (MIR Journal)*. – 2022. – Vol. 9, N 1. – P. 18–30. <https://doi.org/10.18527/2500-2236-2022-9-1-18-30>
22. Сравнительная характеристика методов выделения метагеномной ДНК для изучения микробиоты кишечника / Е. В. Охремчук [и др.] // *Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты* : сб. науч. тр. / гл. ред. Э. И. Коломиец. – Минск, 2020. – Т. 12. – С. 339–354.
23. Simpson, E. H. Measurement of diversity / E. H. Simpson // *Nature*. – 1949. – Vol. 163, N 4148. – P. 688–688.
25. Donor stool processing time: the effect on the intestinal microbiome and clinical outcomes of fecal microbiota transplantation in *Clostridium difficile* infection / S. Budree [et al.]. – *Gastroenterology*. – 2017. – Vol. 152, N 5. – P. S1006. [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(17\)33415-7](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(17)33415-7)
26. Effect of antibiotic pretreatment on bacterial engraftment after Fecal Microbiota Transplant (FMT) in IBS-D / P. Singh [et al.] // *Gut Microbes*. – 2022. – Vol. 14, N 1. – Art. 2020067. <https://doi.org/10.1080/19490976.2021.2020067>

References

1. Eiseman B., Silen W., Bascom G.S., Kauvar A. J. Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis. *Surgery*, 1958, vol. 44, no. 5, pp. 854–859.
2. Brandt L. J., Aroniadis O. C., Mellow M., Kanatzar A., Kelly C., Park T., Stollman N., Rohlke F., Surawicz Ch. Long-term follow-up of colonoscopic fecal microbiota transplant for recurrent *Clostridium difficile* infection. *American Journal of Gastroenterology*, 2012, vol. 107, no. 7, pp. 1079–1087. <https://doi.org/10.1038/ajg.2012.60>
3. Leffler D. A., Lamont J. T. *Clostridium difficile* infection. *New England Journal of Medicine*, 2015, vol. 372, no. 16, pp. 1539–1548. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1403772>
4. Balabantseva A. P., Tkach S. M., Klyaritskaya I. L. Faecal microbiota transplantation as an effective method of treatment of enteropathy and some metabolic and autoimmune conditions. *Krymskii terapevticheskii zhurnal* [Crimean journal of internal diseases], 2016, vol. 1, pp. 12–21 (in Russian).
5. van Nood E., Vrieze A., Nieuwdorp M., Fuentes S., Zoetendal E. G., de Vos W. M. [et al.]. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *New England Journal of Medicine*, 2013, vol. 368, no. 5, pp. 407–415. <https://doi.org/10.1056/NEJMoal205037>
6. Kakhana K., Fujioka Y., Suda W., Najima Yu., Kuwata G., Sasajima S. [et al.]. Fecal microbiota transplantation for patients with steroid-resistant acute graft-versus-host disease of the gut. *Blood*, 2016, vol. 128, no. 16, pp. 2083–2088. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-05-717652>
7. Shono Y., Docampo M. D., Peled J. U., Perobelli S. M., Jenq R. R. Intestinal microbiota-related effects on graft-versus-host disease. *International Journal of Hematology*, 2015, vol. 101, no. 5, pp. 428–437. <https://doi.org/10.1007/s12185-015-1781-5>
8. Leszczyszyn J. J., Radomski M., Leszczyszyn A. M. Intestinal microbiota transplant – current state of knowledge. *Rheumatology*, 2016, vol. 54, no. 1, pp. 24–28. <https://doi.org/10.5114/reum.2016.58758>
9. Afanas'ev B. V., Zubarovskaya L. S., Moiseev I. S. Allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells in children: present, problems, perspectives. *Rossiiskii zhurnal detskoj gematologii i onkologii* [Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology], 2015, vol. 2, no. 2, pp. 28–42 (in Russian).
10. Goloshchapov O. V., Kucher M. A., Suvorova M. A., Klement'eva R. V., Shcherbakov A. A., Shvetsov A. N., Moiseev I. S., Chukhlovina A. B., Afanas'ev B. V. First experience in the treatment of multidrug-resistant infectious complications associated with *Clostridium difficile* and *Klebsiella pneumoniae* using fecal microbiota transplantation in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Infektsionnye bolezni* [Messenger of anesthesiology and resuscitation], 2019, vol. 16, no. 3, pp. 63–73 (in Russian).
11. Goloshchapov O. V., Chukhlovina A. B., Bakin E. A., Stanevich O. V., Klement'eva R. V., Shcherbakov A. A. [et al.]. Fecal microbiota transplantation for graft-versus-host disease in children and adults: methods, clinical effects, safety. *Terapevticheskii arkhiv* [Therapeutic archive], 2020, vol. 92, no. 7, pp. 43–54 (in Russian).
12. Battipaglia G., Malard F., Rubio M. T., Ruggeri A., Mamez A. C., Brissot E. [et al.]. Fecal microbiota transplantation before or after allogeneic hematopoietic transplantation in patients with hematologic malignancies carrying multidrug-resistance bacteria. *Haematologica*, 2019, vol. 104, no. 8, pp. 1682–1688. <https://doi.org/10.3324/haematol.2018.198549>
13. Montassier E., Al-Ghalith G. A., Ward T., Corvec S., Gastinne T., Potel G., Moreau P., de la Cochetiere M. F., Batard E., Knights D. Pretreatment gut microbiome predicts chemotherapy-related bloodstream infection. *Genome Medicine*, 2016, vol. 8, no. 1, art. 49. <https://doi.org/10.1186/s13073-016-0301-4>
14. Gorzelak M. A., Gill S. K., Tasnim N., Ahmadi-Vand Z., Jay M., Gibson D. L. Methods for improving human gut microbiome data by reducing variability through sample processing and storage of stool. *PLoS ONE*, 2015, vol. 10, no. 8, p. e0134802. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134802>
15. Cammarota G., Ianiro G., Kelly C. R., Mullish B. H., Allegretti J. R., Kassarjian Z. [et al.]. International consensus conference on stool banking for faecal microbiota transplantation in clinical practice. *Gut*, 2019, vol. 68, no. 12, pp. 2111–2121. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2019-319548>
16. Yakupova A. A., Abdulkhakov S. R., Safin A. G., Alieva I. M., Oslopova Yu. V., Abdulkhakov R. A. Fecal microbiota transplantation: donor selection criteria, storage and preparation of biomaterials (review of current recommendations). *Terapevticheskii arkhiv* [Therapeutic archive], 2021, vol. 93, no. 2, pp. 215–221 (in Russian).
17. Smillie C. S., Sauk J., Gevers D., Friedman J., Sung J., Youngster I. [et al.]. Strain tracking reveals the determinants of bacterial engraftment in the human gut following fecal microbiota transplantation. *Cell Host & Microbe*, 2018, vol. 23, no. 2, pp. 229–240.e5. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2018.01.003>
18. Youngster I., Mahabamunage J., Systrom H. K., Sauk J., Khalili H., Levin J., Kaplan J. L., Hohmann E. L. Oral, frozen fecal microbiota transplant (FMT) capsules for recurrent *Clostridium difficile* infection. *BMC Medicine*, 2016, vol. 14, no. 1, art. 134. <https://doi.org/10.1186/s12916-016-0680-9>
19. *OpenBiome. OpenBiome Quality Metrics. 2019*. Available at: <https://static1.squarespace.com/static/50e0c29ae4b0a05702af7e6a/t/5cc2477b36a72a000152b793/1556236156464/Quality+Metrics.pdf> (accessed 23.06.2022).
20. Karolewska-Bochenek K., Grzesiowski P., Banaszkiwicz A., Banaszkiwicz A., Gawronska A., Kotowska M., Dziekiewicz M., Albrecht P., Radzikowski A., Lazowska-Przeorek I. A two-week fecal microbiota transplantation course in pediatric patients with inflammatory bowel disease. *Clinical Investigation*. Cham, 2017, pp. 81–87.
21. Akhremchuk K. V., Skapavets K. Y., Akhremchuk A. E., Kirsanova N. P., Sidarenka A. V., Valentovich L. N. Gut microbiome of healthy people and patients with hematological malignancies in Belarus. *MIR Journal*, 2022, vol. 9, no. 1, pp. 18–30. <https://doi.org/10.18527/2500-2236-2022-9-1-18-30>

22. Okhremchuk E. V., Okhremchuk A. E., Buinitskaya S. V., Sidorenko A. V., Valentovich L. N. Comparative evaluation of metagenomic DNA extraction methods for analysis of gut microbiota. *Mikrobnnye biotekhnologii: fundamental'nye i prikladnye aspekty: sbornik nauchnykh trudov. Tom 12* [Microbial biotechnologies: fundamental and applied aspects: collection of scientific papers. Vol. 12]. Minsk, 2020, pp. 339–354 (in Russian).

23. Simpson E. H. Measurement of Diversity. *Nature*, 1949, vol. 163, no. 4148, pp. 688–688.

24. Budree S., Elliott R. J., Rao S., Njenga M., Ladha A., Allegretti J. R. [et al.]. Donor stool processing time: the effect on the intestinal microbiome and clinical outcomes of fecal microbiota transplantation in *Clostridium difficile* infection. *Gastroenterology*, 2017, vol. 152, no. 5, p. S1006. [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(17\)33415-7](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(17)33415-7)

25. Singh P., Alm E. J., Kelley J. M., Cheng V., Smith M., Kassam Z., Nee J., Iturrino J., Lembo A. Effect of antibiotic pretreatment on bacterial engraftment after Fecal Microbiota Transplant (FMT) in IBS-D. *Gut Microbes*, 2022, vol. 14, no. 1, art. 2020067. <https://doi.org/10.1080/19490976.2021.2020067>

Информация об авторах

Охремчук Екатерина Владимировна – науч. сотрудник. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. акад. В. Ф. Купревича, 2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: katerina_akhr@bio.bsu.by. <https://orcid.org/0000-0002-3195-6529>

Скоповец Екатерина Ярославовна – мл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: skopovets@yandex.by. <https://orcid.org/0000-0002-4510-6760>

Охремчук Артур Эдуардович – науч. сотрудник. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. акад. В. Ф. Купревича, 2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: akhremchuk@bio.bsu.by. <https://orcid.org/0000-0001-8602-4887>

Кирсанова Наталья Павловна – канд. мед. наук, врач-гематолог. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: litvinko_natasha@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0002-3193-4864>

Сидоренко Анастасия Вячеславовна – канд. биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. акад. В. Ф. Купревича, 2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: a_sidarenka@mbio.bas-net.by. <https://orcid.org/0000-0001-8447-9538>

Валентович Леонид Николаевич – канд. биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. акад. В. Ф. Купревича, 2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: valentovich@mbio.bas-net.by <https://orcid.org/0000-0001-7329-743X>

Information about the authors

Katsiaryna U. Akhremchuk – Researcher. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: katerina_akhr@bio.bsu.by. <https://orcid.org/0000-0002-3195-6529>

Katsiaryna Y. Skapavets – Junior Researcher. Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., 223053, v. Boroqliany, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: skopovets@yandex.by. <https://orcid.org/0000-0002-4510-6760>

Artur E. Akhremchuk – Researcher. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: akhremchuk@bio.bsu.by. <https://orcid.org/0000-0001-8602-4887>

Natallia P. Kirsanova – Ph. D. (Med.), hematologist. Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., 223053, v. Boroqliany, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: litvinko_natasha@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0002-3193-4864>

Anastasiya V. Sidarenka – Ph. D. (Biol.), Associate Professor, Head of the Laboratory. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: a_sidarenka@mbio.bas-net.by. <https://orcid.org/0000-0001-8447-9538>

Leonid N. Valentovich – Ph. D. (Biol.), Associate Professor, Head of the Laboratory. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: valentovich@mbio.bas-net.by <https://orcid.org/0000-0001-7329-743X>

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК [57.084:57.089]:612.884

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-4-404-412>

Поступила в редакцию 15.10.2021

Received 15.10.2021

А.-М. В. Ерофеева, А. Ю. Молчанова

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ВЛИЯНИЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АЛЛОГЕННЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ НА НОЦИЦЕПТИВНЫЕ РЕАКЦИИ И ПАРАМЕТРЫ ПОХОДКИ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИЕЙ

Аннотация. Периферические neuropathies сопровождаются хроническим изнурительным болевым синдромом и трудно поддаются лечению. В связи с этим актуальной представляется разработка клеточной терапии neuropathies с использованием мезенхимальных стволовых клеток (МСК) жировой ткани.

В работе изучено влияние однократной локальной трансплантации МСК жировой ткани на ноцицептивные реакции в ответ на механический и термический стимулы, а также на параметры походки крыс при моделировании периферической neuropathies методом аксотомии седалищного нерва.

Установлено, что однократное локальное введение МСК в дозе $1 \cdot 10^6$ клеток/кг устраняет вызванную травмой седалищного нерва механическую и термическую гипералгезию ипсилатеральной конечности к 14-м суткам после трансплантации, способствует восстановлению функционального индекса седалищного нерва и динамических параметров походки к 7-м суткам после трансплантации клеток, а также нивелирует развитие нарушений походки в долгосрочном периоде.

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки, neuropathies, боль, седалищный нерв, функциональный седалищный индекс, походка

Для цитирования: Ерофеева, А.-М. В. Влияние трансплантации аллогенных мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани на ноцицептивные реакции и параметры походки крыс с экспериментальной периферической neuropathies / А.-М. В. Ерофеева, А. Ю. Молчанова // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2022. – Т. 19, № 4. – С. 404–412. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-4-404-412>

Anna-Maria V. Yerofeyeva, Alla Yu. Molchanova

Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

IMPACT OF ADIPOSE-DERIVED ALLOGENEIC MESENCHYMAL STEM CELL TRANSPLANTATION ON NOCICEPTIVE REACTIONS AND GAIT PARAMETERS IN RATS WITH EXPERIMENTAL PERIPHERAL NEUROPATHY

Abstract. Peripheral neuropathy is associated with chronic debilitating pain and is difficult to treat. In this regard, the development of cell therapy of neuropathic pain using adipose-derived mesenchymal stem cells (MSCs) seems to be relevant.

The work was devoted to study the impact of adipose-derived allogeneic MSC transplantation on nociceptive reactions in response to mechanical and thermal stimuli and gait parameters in rats with sciatic nerve injury.

It is found that a single local injection of MSCs at a dose of $1 \cdot 10^6$ cells/kg eliminates axotomy-induced mechanical and thermal hyperalgesia on the 14th day after transplantation, contributes to the recovery of the sciatic functional index and the dynamic gait parameters on the 7th day after transplantation, and prevents the development of gait disturbances in the long-term period.

Keywords: mesenchymal stem cells, neuropathy, pain, sciatic nerve, sciatic functional index, gait

For citation: Yerofeyeva A.-M. V., Molchanova A. Yu. Impact of adipose-derived allogeneic mesenchymal stem cell transplantation on nociceptive reactions and gait parameters in rats with experimental peripheral neuropathy. *Vestsi Natsyonal'noi akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk* = *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2022, vol. 19, no. 4, pp. 404–412 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-4-404-412>

Введение. Периферическая neuropathies (НП) представляет собой хронический болевой синдром, возникающий вследствие органического поражения или дисфункции периферических волокон соматосенсорной нервной системы [1]. Данное патологическое состояние встречается, по разным источникам, у 7–20 % взрослого населения, и, как правило, сопровождается значительным ухудшением качества жизни пациентов вплоть до инвалидизации [2, 3]. Этиология периферической

НП включает перенесенные травмы, прогрессирующий сахарный диабет, дегенеративно-дистрофические изменения костно-мышечной системы, некоторые вирусные инфекции и онкологические заболевания, однако отмечаются и случаи идиопатической нейропатической боли [1, 2].

Современные схемы терапии периферической НП, направленные на конкретные патофизиологические механизмы болевого синдрома, показывают клиническую эффективность при верно выявленных причинах возникновения нейропатической боли. Вместе с тем данные фармакотерапевтические методы зачастую не способны устранить истинную причину повреждения нервных волокон, в силу чего пациентам необходим длительный, даже пожизненный, прием препаратов, которые нередко обладают побочными эффектами, затрудняющими нормальную жизнедеятельность [2, 3].

В этой связи весьма актуальной представляется разработка клеточной терапии НП с использованием мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани (МСК ЖТ) [4, 5]. Данные клетки обладают, в частности, иммуномодулирующими, противовоспалительными и антиапоптотическими свойствами, что было показано в исследованиях *in vitro* [4–7], а также легко выделяются по сравнению с другими клетками [5]. Имеются экспериментальные доказательства анальгетического эффекта локального введения МСК ЖТ в область каррагинан-индуцированного воспаления у крыс [8]. Ранее авторами на модели травмы Ахиллова сухожилия у крыс показан антиноцицептивный эффект локального введения МСК ЖТ [9]. Вместе с тем для внедрения этого метода в клиническую практику данных об антиноцицептивном и репаративном потенциале МСК ЖТ при введении в область повреждения периферических нервных волокон пока недостаточно.

Целью работы являлось изучение влияния однократного локального введения аллогенных мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани на ноцицептивную чувствительность и параметры походки крыс при моделировании периферической нейропатии седалищного нерва.

Материалы и методы исследования. Исследование выполнено на 20 крысах-самцах стока Wistar с исходной массой 200–220 г. Животных содержали в условиях вивария ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси» при температуре $22,0 \pm 1,0$ °С и 12-часовым циклом освещения день/ночь с доступом к воде и пище *ad libitum*. Все манипуляции выполняли в утренние часы. Эксперименты проведены с соблюдением законодательства, принципов биоэтики и согласно положениям Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для научных исследований (Страсбург, 1986). Протоколы экспериментов одобрены комиссией по биоэтике при ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси».

Моделирование периферической НП осуществляли путем аксотомии участка седалищного нерва размером 1 см, расположенного выше трифуркации левой задней конечности крыс. Все хирургические манипуляции проводили под общим наркозом (50 мг/кг тиопентала натрия внутривенно) с местной анестезией (100 мкл 1 %-ного раствора лидокаина гидрохлорида (Борисовский завод медицинских препаратов, Беларусь) внутримышечно). Раны ушивали узловым швом с использованием шовного материал Сургикрол 3-0 («Футберг», Беларусь). После операции животные находились под визуальным контролем в индивидуальных боксах до выхода из наркоза. Для профилактики постоперационной раневой инфекции животным однократно подкожно вводили антибиотик цефтриаксон (Борисовский завод медицинских препаратов, Беларусь) в дозе 200 мг/кг.

Аллогенную трансплантацию МСК ЖТ осуществляли на 7-е сутки после аксотомии. МСК ЖТ аллогенного происхождения предварительно выделяли из жировой ткани интактных крыс и впоследствии культивировали на базе ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси» согласно ранее изложенной методике [10]. Далее в исследовании использовали МСК ЖТ 4-го пассажа. Клеточный трансплантат в дозе $1 \cdot 10^6$ клеток/кг, разведенный в апирогенном физиологическом растворе, вводили по периметру места аксотомии седалищного нерва (4 инъекции по воображаемому циферблату).

Ноцицептивные реакции исследовали до операции и на 7, 14, 21, 28, 60 и 90-е сутки после моделирования НП. Порог ноцицептивной реакции (ПНР) на механический стимул, измеряемый минимальной силой надавливания пластикового конуса на стопу животного, вызывающей

ноцицептивную реакцию, определяли с помощью алгезиметра «Рэндалла-Селитто» (PanLab, Испания) [11]. Латентный период ноцицептивной реакции (ЛПНР) на тепловую стимуляцию горячей пластиной, нагретой до $50,0 \pm 1,0$ °С, оценивали с использованием алгезиметра Hot-plate (PanLab, Испания) [11]. Тесты для каждого животного проводили трехкратно, с интервалом 5–7 мин, далее использовали усредненные значения.

Параллельно тестам на ноцицептивные реакции регистрировали параметры походки крыс с помощью аппаратно-программного комплекса CatWalk XT 10.6 (Noldus, Голландия). Данная система позволяет количественно оценивать параметры походки во время непринужденного передвижения животного по специальному коридору, оснащенный красной LED-подсветкой контура животного и зеленой LED-подсветкой мест контакта животного с поверхностью стеклянного пола. Интенсивность освещения места контакта лап с поверхностью стекла фиксировали высокоскоростной видеокамерой, расположенной под коридором, и затем анализировали с помощью программного обеспечения [12].

До начала исследования животных адаптировали к прибору. Тестирование каждого животного осуществляли до получения трех адекватных пробегов. Для оценки степени тонических болевых ощущений (аллодинии) при произвольном передвижении изучали параметры походки, связанные с болью, а также общие параметры походки (их краткая характеристика представлена в таблице).

Характеристика исследуемых параметров походки у экспериментальных животных

Characteristics of the investigated gait parameters in experimental animals

Параметр	Описание
Параметры походки, связанные с болью	
<i>Stand time</i>	Длительность фазы опоры лапы на поверхность
<i>Swing time</i>	Длительность фазы переноса лапы в воздухе
<i>Duty cycle</i>	Рабочий цикл лапы, отношение длительности фазы опоры лапы к длительности полного цикла шага
<i>Max intensity</i>	Максимальная интенсивность отпечатка лапы
<i>Mean intensity</i>	Средняя интенсивность отпечатка лапы
<i>Max contact max intensity</i>	Максимальная интенсивность отпечатка лапы при максимальном контакте с поверхностью
<i>Max contact mean intensity</i>	Средняя интенсивность отпечатка лапы при максимальном контакте с поверхностью
Общие параметры походки	
<i>Print length</i>	Длина отпечатка
<i>Print width</i>	Ширина отпечатка
<i>Print area</i>	Площадь отпечатка
<i>Max contact area</i>	Площадь отпечатка при максимальном контакте лапы с поверхностью

Исследуемые параметры походки регистрировали для левой и правой задних конечностей, после чего вычисляли отношение каждого параметра левой (оперированной) лапы к здоровой правой лапе.

Для оценки функциональной активности седалищного нерва рассчитывали функциональный седалищный индекс – *Sciatic Functional Index (SFI)*, показывающий степень нарушения моторной функции стопы поврежденной конечности относительно стопы здоровой контрольной конечности. Индекс *SFI* рассчитывался программой автоматически по формуле [13]:

$$SFI = -38,3(PL_E - PL_N)/PL_N + 109,5(TS_E - TS_N)/TS_N + 13,3(ITS_E - ITS_N)/ITS_N - 8,8,$$

где *TS* – расстояние между 1-м и 5-м пальцами оперированной (TS_E) и здоровой (TS_N) конечности; *ITS* – расстояние между 2-м и 4-м пальцами оперированной (ITS_E) и здоровой (ITS_N) конечности; *PL* – расстояние между 3-м пальцем и пяткой оперированной (PL_E) и здоровой (PL_N) конечности.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета Statistica 10 (Statsoft Inc., США), графическую обработку – с помощью программ OriginPro 7.0 (OriginLab Corp., США) и Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corp., США). Показатели алгометрии, а также *SFI* представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее, m – стандартная ошибка среднего, данные параметров походки – в процентах от фонового отношения левой (оперированной) конечности к правой конечности, Нормальность распределения данных проверяли с применением критерия Шапиро–Уилка, значимость наблюдаемых отличий – с помощью дисперсионного анализа повторных измерений (repeated measures ANOVA). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. *Изменение ноцицептивной чувствительности.* Аксотомия седалищного нерва приводила к выраженному снижению ПНР к 7-м суткам после операции. В группе НП без лечения данный показатель снизился на 35,5 % (с $136,0 \pm 1,9$ до $87,7 \pm 2,0$ г, $p < 0,001$ по сравнению со значением до моделирования НП), механическая гипералгезия сохранялась по 90-е сутки включительно (рис. 1, *a*). В группе НП + МСК ЖТ к 7-м суткам после операции отмечено снижение ПНР на 36,9 % (с $135,4 \pm 1,6$ до $85,4 \pm 2,0$ г, $p < 0,001$ по сравнению со значением до моделирования НП). Однократное введение МСК ЖТ в дозе $1 \cdot 10^6$ клеток/кг в область травмы седалищного нерва приводило к восстановлению ПНР до исходного уровня ($129,4 \pm 2,0$ г) к 14-м суткам после трансплантации (21-е сутки после моделирования НП) ($p > 0,05$ по сравнению со значением до моделирования НП). Данный эффект сохранялся на протяжении исследования (рис. 1, *a*).

При исследовании динамики изменения ноцицептивной чувствительности на термический стимул наблюдались аналогичные тенденции (рис. 1, *b*). Так, к 7-м суткам после моделирования НП отмечено развитие термической гипералгезии, что выражалось в снижении ЛПНР в случае НП без лечения на 34,3 % (с $18,1 \pm 0,6$ до $11,9 \pm 0,4$ с, $p < 0,001$ по сравнению со значением до моделирования НП); в группе НП + МСК ЖТ данный показатель снизился на 32,9 % (с $17,4 \pm 0,5$ до $11,7 \pm 0,5$ с, $p < 0,001$ по сравнению со значением до моделирования НП). В случае НП без лечения не наблюдалось тенденции к восстановлению исходной ноцицептивной чувствительности. В то же время трансплантация МСК ЖТ в исследуемой дозе способствовала восстановлению ЛПНР до исходного уровня к 14-м суткам после инъекции (21-е сутки после аксотомии) – до $16,2 \pm 0,5$ с ($p > 0,05$ по сравнению со значением до моделирования НП) (рис. 1, *b*).

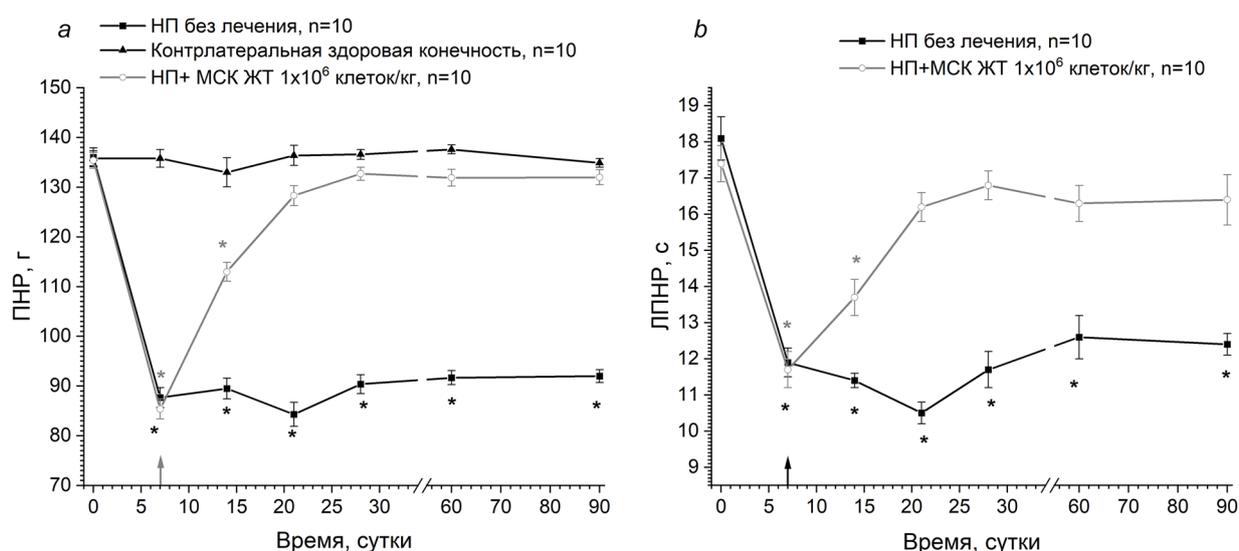


Рис. 1. Изменение ноцицептивной чувствительности на механический (*a*) и термический стимулы (*b*) при моделировании НП седалищного нерва и трансплантации аллогенных МСК ЖТ. Стрелками отмечено время трансплантации. * – $p < 0,05$ по сравнению со значением до моделирования НП

Fig. 1. Changes in the nociceptive sensitivity at mechanical (*a*) and thermal stimuli (*b*) in rats with sciatic NP and allogenic ADMSC transplantation. The arrow indicates the ADMSC transplantation time.

* – $p < 0.05$ compared to the value before NP

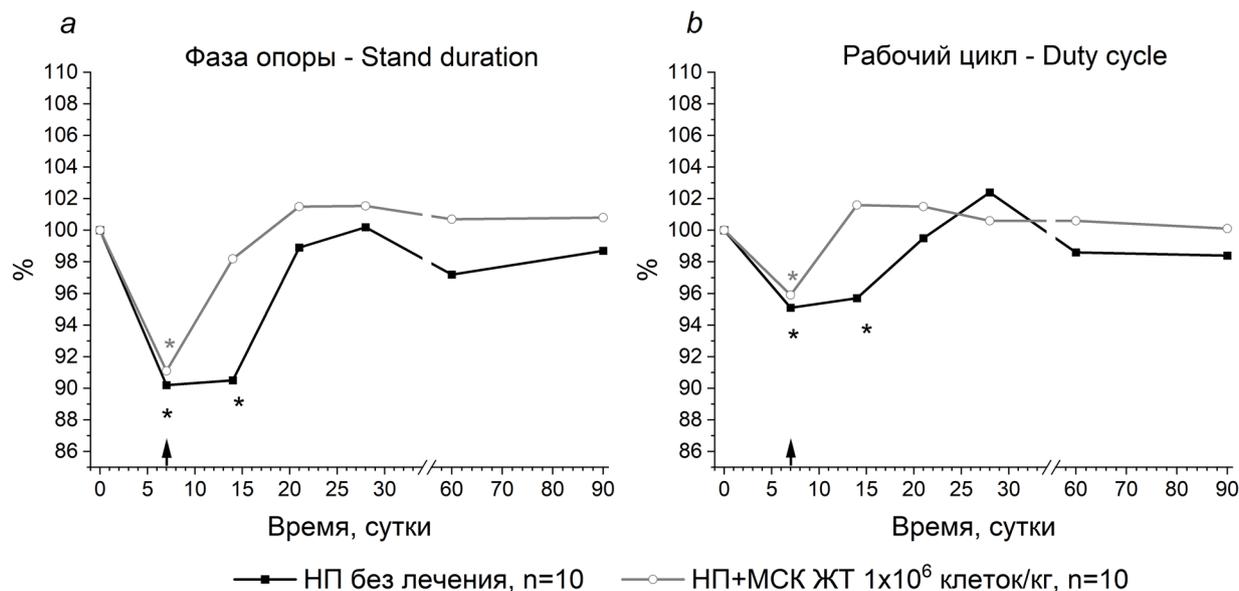


Рис. 2. Изменение динамических параметров походки крыс (*a, b*) при моделировании НП и трансплантации аллогенных МСК ЖТ. Стрелками отмечено время трансплантации.
* – $p < 0,05$ по сравнению со значением до моделирования НП

Fig. 2. Changes in the dynamic gait parameters (*a, b*) in rats with sciatic NP and allogeneic ADMSC transplantation. The arrow indicates the ADMSC transplantation time. * – $p < 0.05$ compared to the value before NP

Изменение параметров походки. Развитие НП у крыс сопровождалось снижением длительности контакта поврежденной конечности с поверхностью (*stand time*), а также сокращением рабочего цикла поврежденной конечности (*duty cycle*) к 7-м суткам после операции (рис. 2, *a, b*). В группе животных с НП без лечения отмечено снижение параметра *stand time* на 9,8 % относительно исходных значений ($p < 0,001$), а параметра *duty cycle* – на 4,9 % ($p < 0,05$). К 21-м суткам исследования в данной группе наступало адаптационное восстановление данных параметров походки ($p < 0,05$). В группе НП + МСК ЖТ данные показатели снизились к 7-м суткам после моделирования НП на 8,9 и 4,1 % соответственно ($p < 0,05$). Однократное локальное введение исследуемой дозы МСК ЖТ способствовало восстановлению динамических параметров *stand time* и *duty cycle* уже к 7-м суткам после инъекции (14-е сутки после аксотомии) ($p < 0,05$). Вместе с тем параметр *swing time* не изменялся статистически значимо ни в одной группе животных ($p > 0,05$).

В долгосрочном периоде в случае НП без лечения наблюдалось выраженное снижение параметров интенсивности отпечатков оперированной конечности к 28-м суткам после аксотомии (рис. 3, *a–d*). Так, параметр *max intensity* снизился на 19,5 % ($p < 0,001$ по сравнению со значением до моделирования НП) (рис. 3, *a*); параметр *mean intensity* – на 7,5 % ($p < 0,001$ по сравнению со значением до моделирования НП) (рис. 3, *b*); параметр *max contact max intensity* – на 15,7 % ($p < 0,001$ по сравнению со значением до моделирования НП) (рис. 3, *c*). Снижение параметра *max contact mean intensity* (на 10,1 %, $p < 0,01$ по сравнению со значением до моделирования НП) наступало к 60-м суткам после аксотомии (рис. 3, *d*). Вероятно, указанные изменения параметров интенсивности отпечатков связаны с прогрессированием аллодинии травмированной конечности. Вместе с тем аллогенная трансплантация МСК ЖТ в дозе $1 \cdot 10^6$ клеток/кг эффективно предотвращала снижение параметров интенсивности отпечатков, о чем свидетельствует отсутствие статистически значимых изменений параметров интенсивности отпечатков в данной группе животных на протяжении исследования ($p > 0,05$) (рис. 3, *a–d*).

Общие параметры походки изменялись аналогично параметрам интенсивности отпечатков. К 28-м суткам после аксотомии в группе НП без лечения отмечено снижение следующих пара-

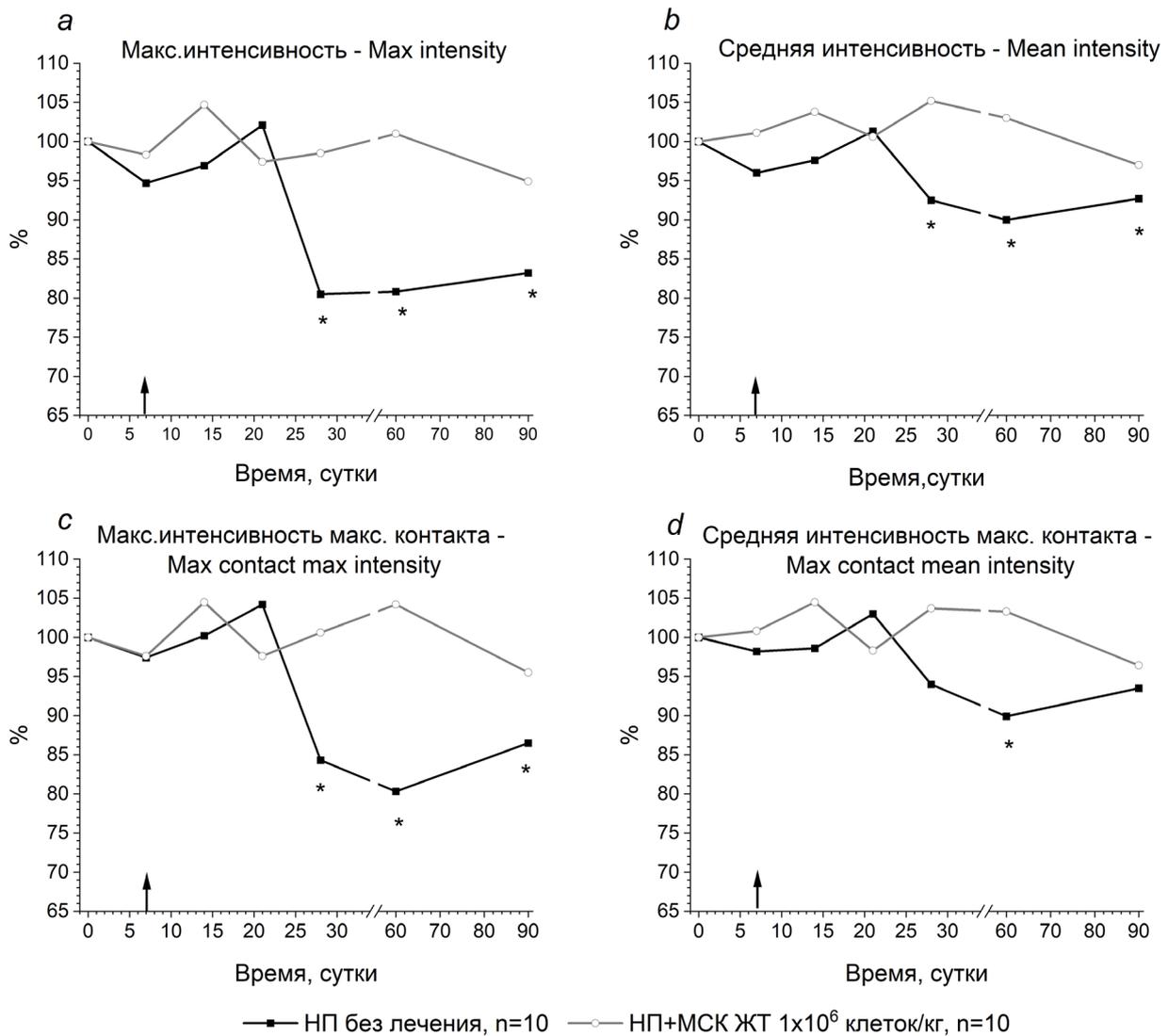


Рис. 3. Изменение параметров интенсивности отпечатков задних лап крыс (а–д) при моделировании НП и трансплантации аллогенных МСК ЖТ. Стрелками отмечено время трансплантации.
* – $p < 0,05$ по сравнению со значением до моделирования НП

Fig. 3. Changes in the parameters of hind paw print intensities (a–d) in rats with sciatic NP and allogeneic ADMSC transplantation. The arrow indicates the ADMSC transplantation time.
* – $p < 0.05$ compared to the value before NP

метров: *print length* – на 14,2 % (здесь и далее $p < 0,05$ по сравнению со значением до моделирования НП) (рис. 4, а); *print width* – на 20,0 % ($p < 0,001$) (рис. 4, б); *print area* – на 30,9 % ($p < 0,01$) (рис. 4, в), *max contact area* – на 29,3 % ($p < 0,001$) (рис. 4, д).

Однократное введение исследуемой дозы МСК ЖТ, помимо интенсивности отпечатков, нивелировало также нарушения общих параметров походки (рис. 4, а–д).

Изменение функционального седалищного индекса (SFI). Моделирование НП приводило к снижению функциональной активности седалищного нерва поврежденной конечности к 7-м суткам после аксотомии, о чем свидетельствовало статистически значимое снижение *SFI* во всех группах животных ($p < 0,001$) (рис. 5).

Вместе с тем трансплантация аллогенных МСК ЖТ в исследуемой дозе способствовала восстановлению *SFI* до исходного уровня в группе НП + МСК ЖТ уже к 7-м суткам после инъекции (14-е сутки после аксотомии) ($p > 0,05$).

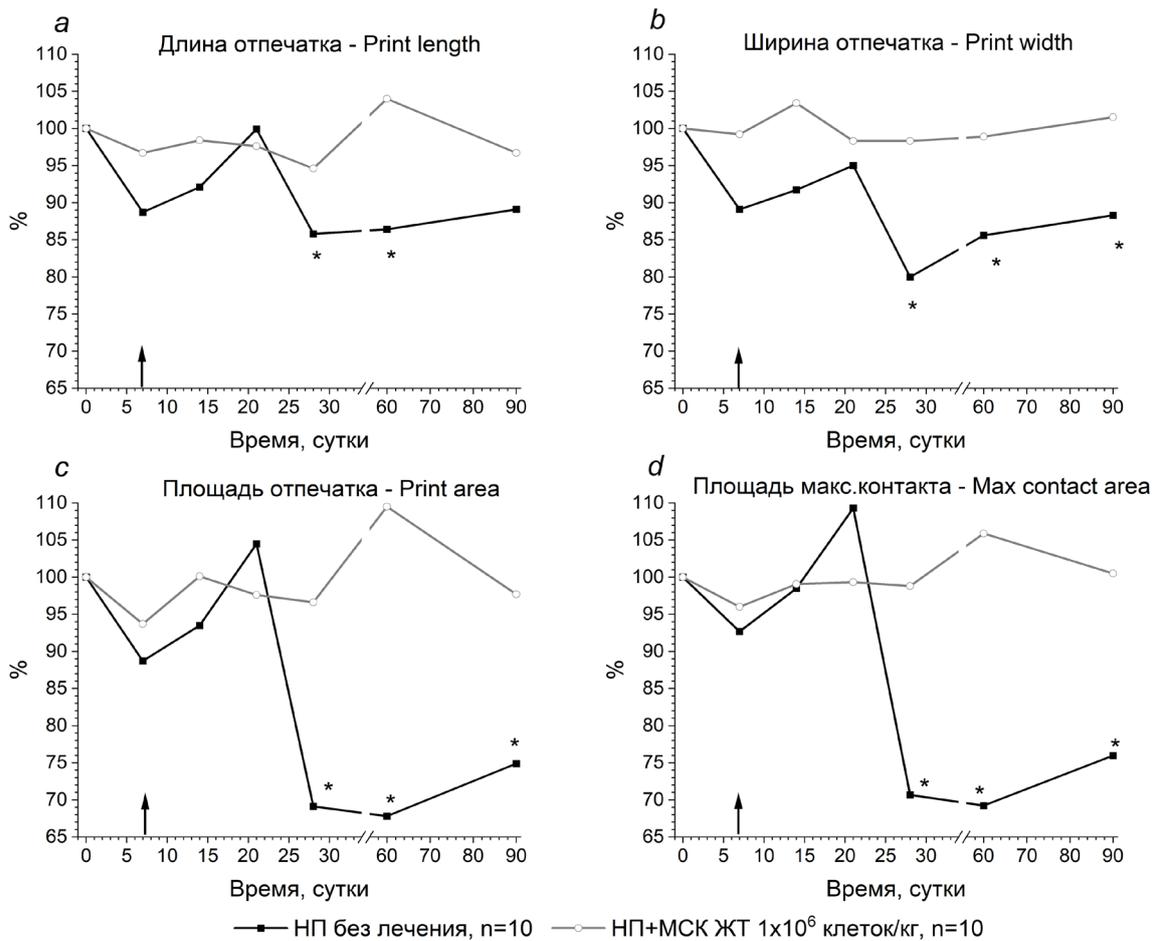


Рис. 4. Изменение общих параметров походки крыс (а–д) при моделировании нейропатии НП и трансплантации аллогенных МСК ЖТ. Стрелками отмечено время трансплантации.
* – $p < 0,05$ по сравнению со значением до моделирования НП

Fig. 4. Changes in the general gait parameters (a–d) in rats with sciatic NP and allogeneic ADMSC transplantation. The arrow indicates the ADMSC transplantation time. * – $p < 0.05$ compared to the value before NP

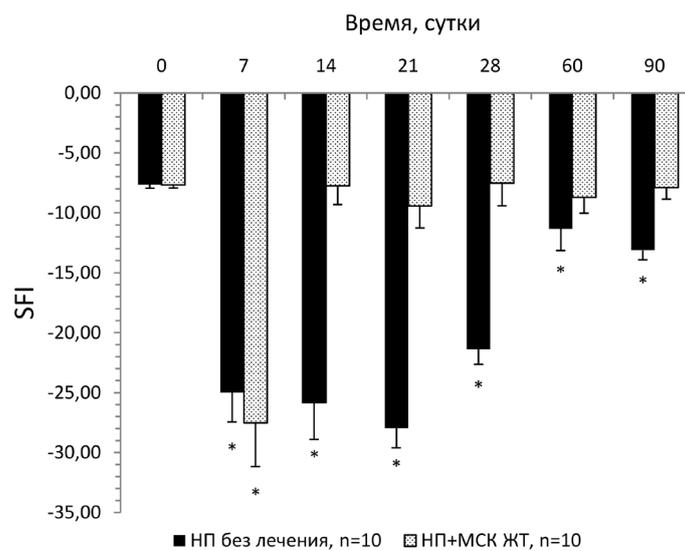


Рис. 5. Динамика изменения SFI крыс при моделировании НП и трансплантации аллогенных МСК ЖТ. Стрелкой отмечено время трансплантации. * – $p < 0,05$ по сравнению со значением до моделирования НП

Fig. 5. Changes in SFI in rats with sciatic NP and allogeneic ADMSC transplantation. The arrow indicates the ADMSC transplantation time. * – $p < 0.05$ compared to the value before NP

Заклучение. Полученные результаты свидетельствуют о том, что введение МСК ЖТ в дозе $1 \cdot 10^6$ клеток/кг в зону аксотомии седалищного нерва крыс оказывает антиноцицептивный эффект, выраженный в устранении механической и термической гипералгезии, восстановлении функциональной активности седалищного нерва, а также в устранении нарушений походки как в ранние сроки после введения, так и в долгосрочном периоде. Однако для выяснения механизмов антиноцицептивного и репаративного действия МСК ЖТ необходимы дальнейшие исследования изменения морфологической картины и молекулярного профиля области повреждения периферических нервных волокон на фоне трансплантации МСК ЖТ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Bouhassira, D. Neuropathic pain: Definition, assessment and epidemiology / D. Bouhassira // *Rev. Neurologique*. – 2019. – Vol. 175, N 1–2. – P. 16–25. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2018.09.016>
2. Murnion, B. P. Neuropathic pain: current definition and review of drug treatment / B. P. Murnion // *Aust. Prescr.* – 2018. – Vol. 41, N 3. – P. 60–63. <https://doi.org/10.18773/austprescr.2018.022>
3. Smith, B. H. Neuropathic pain in the community: prevalence, impact, and risk factors / B. H. Smith, H. L. Hébert, A. Veluchamy // *Pain*. – 2020. – Vol. 161, suppl. 1. – P. S127–S137. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001824>
4. Mesenchymal stem cells for regenerative medicine / Y. Han [et al.] // *Cells*. – 2019. – Vol. 8, N 8. – Art. 886. <https://doi.org/10.3390/cells8080886>
5. Adipose tissue derived multipotent stromal cells have a higher immunomodulatory capacity than their bone marrow-derived counterparts / S. M. Melief [et al.] // *Stem Cells Transl. Med.* – 2013. – Vol. 2, N 6. – P. 455–463. <https://doi.org/10.5966/sctm.2012-0184>
6. Molecular mechanisms responsible for therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived secretome / C. R. Harrell [et al.] // *Cells*. – 2019. – Vol. 8, N 5. – P. 467–501. <https://doi.org/10.3390/cells8050467>
7. The immunomodulatory functions of mesenchymal stromal/stem cells mediated via paracrine activity / Y. Zhou [et al.] // *J. Clin. Med.* – 2019. – Vol. 12, N 8. – P. 1025–1042. <https://doi.org/10.3390/jcm8071025>
8. Anti-inflammatory and anti-nociceptive actions of systemically or locally treated/adipose-derived mesenchymal stem cells in experimental inflammatory model / T. Mert [et al.] // *Inflammation*. – 2015. – Vol. 38, N 3. – P. 1302–1310. <https://doi.org/10.1007/s10753-014-0101-1>
9. Влияние аллогенной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани на ноцицептивную чувствительность и репаративные процессы при экспериментальной травме Ахиллова сухожилия у крыс / А.-М. В. Ерофеева [и др.] // *Докл. Нац. акад. наук Беларуси*. – 2020. – Т. 64, № 5. – С. 574–582.
10. Использование гемостатического препарата Спонгостан в качестве носителя мезенхимальных стволовых клеток при лечении экспериментального недержания мочи у крыс / С. В. Пинчук [и др.] // *Докл. Нац. акад. наук Беларуси*. – 2019. – Т. 63, № 4. – С. 457–465.
11. Deuis, J. R. Methods used to evaluate pain behaviors in rodents / J. R. Deuis, L. S. Dvorakova, I. Vetter // *Front. Mol. Neurosci.* – 2017. – Vol. 10. – Art. 284. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00284>
12. Эволюция методик оценки моторной функции лабораторных грызунов, моделирующих нейродегенеративные заболевания / М. М. Чичёва [и др.] // *Biomed. Chem. Res. Meth.* – 2018. – Vol. 1, N 3. – P. e00030.
13. Bain, J. R. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat / J. R. Bain, S. E. Mackinnon, R. T. Hunter // *Plas. Reconstr. Surg.* – 1989. – Vol. 83, N 1. – P. 129–136. <https://doi.org/10.1097/00006534-198901000-00024>

References

1. Bouhassira D. Neuropathic pain: Definition, assessment and epidemiology. *Revue Neurologique*, 2019, vol. 175, no. 1–2, pp. 16–25. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2018.09.016>
2. Murnion B. P. Neuropathic pain: current definition and review of drug treatment. *Australian Prescribers*, 2018, vol. 41, no. 3, pp. 60–63. <https://doi.org/10.18773/austprescr.2018.022>
3. Smith B. H., Hébert H. L., Veluchamy A. Neuropathic pain in the community: prevalence, impact, and risk factors. *Pain*, 2020, vol. 161, suppl. 1, pp. S127–S137. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001824>
4. Han Y., Li X., Zhang Y., Han Yu., Chang F., Ding J. Mesenchymal stem cells for regenerative medicine. *Cells*, 2019, vol. 8, no. 8, art. 886. <https://doi.org/10.3390/cells8080886>
5. Melief S. M., Zwaginga J. J., Fibbe W. E., Roelofs H. Adipose tissue derived multipotent stromal cells have a higher immunomodulatory capacity than their bone marrow-derived counterparts. *Stem Cells Translational Medicine*, 2013, vol. 2, no. 6, pp. 455–463. <https://doi.org/10.5966/sctm.2012-0184>
6. Harrell C. R., Fellabaum C., Jovicic N., Djonov V., Arsenijevic N., Volarevic V. Molecular mechanisms responsible for therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived secretome. *Cells*, 2019, vol. 8, no. 5, pp. 467–501. <https://doi.org/10.3390/cells8050467>

7. Zhou Y., Yamamoto Y., Xiao Z., Ochiya T. The immunomodulatory functions of mesenchymal stromal/stem cells mediated via paracrine activity. *Journal of Clinical Medicine*, 2019, vol. 12, no. 8, pp. 1025–1042. <https://doi.org/10.3390/jcm8071025>

8. Mert T., Kurt A. H., Arslan M., Çelik A., Tugtag B., Akkurt A. Anti-inflammatory and anti-nociceptive actions of systemically or locally treated adipose-derived mesenchymal stem cells in experimental inflammatory model. *Inflammation*, 2015, vol. 38, no. 3, pp. 1302–1310. <https://doi.org/10.1007/s10753-014-0101-1>

9. Erofeeva A.-M. V., Zhavoronok I. P., Antipova O. A., Ryzhkovskaya E. L., Kuznetsova T. E., Vasilevich I. B., Pinchuk S. V., Volotovskii I. D., Molchanova A. Yu. Effects of adipose-derived mesenchymal stem cells on nociceptive sensitivity and repair processes at Achilles tendon injury model in rats. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2020, vol. 64, no. 5, pp. 574–582 (in Russian).

10. Pinchuk S. V., Molchanova A. Yu., Vasilevich I. B., Zhavoronok I. P., Pekhtereva E. I., Antipova O. A., Zalutskii I. V., Volotovskii I. D. Use of hemostatic drug Spongostan as a carrier of mesenchymal stem cells in the treatment of experimental urinary incontinence in rats. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2019, vol. 63, no. 4, pp. 457–465 (in Russian).

11. Deuis J. R., Dvorakova L. S., Vetter I. Methods used to evaluate pain behaviors in rodents. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 2017, vol. 10, art. 284. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00284>

12. Chicheva M. M., Vikhareva E. V., Mal'tsev A. V., Ustyugov A. A. Evolution of methods for assessing the motor function of laboratory rodents – neurodegenerative diseases models. *Biomedical Chemistry: Research and Methods*, 2018, vol. 1, no. 3, p. e00030 (in Russian).

13. Bain J. R., Mackinnon S. E., Hunter R. T. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 1989, vol. 83, no. 1, pp. 129–136. <https://doi.org/10.1097/00006534-198901000-00024>

Информация об авторах

Ерофеева Анна-Мария Вадимовна – мл. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: amyerofeyeva@zoho.eu. <https://orcid.org/0000-0002-9407-9295>

Молчанова Алла Юрьевна – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: alla@fizio.bas-net.by. <https://orcid.org/0000-0001-5053-6602>

Information about the authors

Anna-Maria V. Yerofeyeva – Junior Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: amyerofeyeva@zoho.eu. <https://orcid.org/0000-0002-9407-9295>

Alla Yu. Molchanova – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: alla@fizio.bas-net.by. <https://orcid.org/0000-0001-5053-6602>

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

АГЛЯДЫ
REVIEWS

УДК 616.36-089.843:[611.95+617-089]
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-4-413-423>

Поступила в редакцию 21.03.2022
Received 21.03.2022

**У. Р. Салимов¹, И. О. Стома², А. А. Ковалев², А. Е. Щерба¹,
И. П. Штурич¹, О. О. Руммо¹**

¹*Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии,
Минск, Республика Беларусь*

²*Гомельский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь*

**ПЕЧЕНОЧНО-ИНТЕСТИНАЛЬНАЯ ОСЬ:
ФИЗИОЛОГИЯ СКВОЗЬ ПРИЗМУ МИКРОБИОМА**

Аннотация. В данной работе представлено краткое историческое описание эволюции взглядов на развитие концепции функционирования печеночно-интестинальной оси и ее физиологии. Описаны и обсуждены основные принципы физиологического функционирования нового, «виртуального», органа человека и их роль в патогенезе заболеваний печени, в том числе после перенесенной трансплантации печени.

Приведены полученные нами данные о секвенировании нового поколения, дающие представление о микробиомной палитре пациентов, страдающих хроническими диффузными заболеваниями печени различной этиологии. Собственное исследование было представлено на основании изучения данных 12 обследованных в пред- и посттрансплантационном периоде пациентов, страдающих хроническими диффузными поражениями печени. Полученные результаты свидетельствуют о важном значении микробиома кишечника в естественном процессе реконвалесценции после перенесенной трансплантации печени.

Ключевые слова: печеночно-интестинальная ось, трансплантация печени, клаудины, секвенирование нового поколения, микробиота, кишечно-интестинальный барьер

Для цитирования: Печеночно-интестинальная ось: физиология сквозь призму микробиома / У. Р. Салимов [и др.] // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2022. – Т. 19, № 4. – С. 413–423. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-4-413-423>

**Umid R. Salimov¹, Igor O. Stoma², Aliaksei A. Kovalev², Aliaksei E. Scherba¹,
Ivan P. Shturich¹, Oleg O. Rummo¹**

¹*Minsk Scientific Practical Center of Surgery, Transplantology and Hematology, Minsk, Republic of Belarus*

²*Gomel State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

GUT-LIVER AXIS: PHYSEOLOGY THROUGH THE PRISM OF THE MICROBIOME

Abstract. This paper presents a brief historical description of the evolution of views on the development of the concept of the gut liver axis functioning and its physiological aspects. The “new virtual human organ” physiological fundamentals and their role in the pathogenesis of chronic liver diseases, including late post-transplant period, are described and discussed.

Based on own experience, results of a new generation sequencing describing the characteristics of the microbiome palette in patients suffering from chronic liver diseases of various etiologies are presented. Personal study was based on 12 patients suffering chronic liver disease, who were examined before and after liver transplantation. The obtained results indicate the importance of the intestinal microbiome in the natural process of recovery after liver transplantation.

Keywords: leaky gut, gut-liver axis, liver transplantation, new generation sequencing, tight junctions, claudine, gutvascular barrier

For citation: Salimov U. R., Stoma I. O., Kovalev A. A., Scherba A. E., Shturich I. P., Rummo O. O. Gut-liver axis: physiology through the prism of the microbiome. *Vesti Natsyynal'noi akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2022, vol. 19, no. 4, pp. 413–423 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-4-413-423>

Введение. В 1978 г. У. Вольта из Болонского университета Италии впервые применил термин «печеночно-интестинальная ось» (ПИО) для обозначения специальной взаимосвязи печени и кишечника посредством выработки антигенов для кишечных микроорганизмов у пациентов, страдающих циррозом печени [1, 2]. С тех пор в научной литературе стало появляться все больше цитируемых статей, функционально связывающих два органа как в состоянии здоровья, так и при болезни [3]. Примечательно, что современная концепция ПИО в спектре понятий регулирования иммунобиологического взаимодействия этих органов и его влияния на течение сопутствующих патологических процессов рассматривается сегодня скорее с позиции симбиотического двувекторного дуализма, в то время как, согласно теории монизма, оба органа работают независимо друг от друга. Предложенная концепция, несмотря на ее слабую изученность, стала одной из наиболее обсуждаемых, поскольку стало понятно, что она обладает не только огромным научным, но и практическим потенциалом. Так, ПИО стала именоваться самостоятельным «виртуальным органом человека» [4].

Большая роль отводилась ПИО в развитии различных заболеваний печени, а также в частоте и рапидности прогрессирования тех или иных осложнений при патологии данного органа [2]. В 2010–2020 гг. на многочисленных сессиях EASL, AASLD, APASL и др. было четко определена ключевая роль ПИО в развитии и прогрессировании NAFLD. Позже данная концепция была применена и к недавно сформированному, но до сих пор мало изученному ACLF синдрому, а также к вариабельности его течения в зависимости от тех или иных факторов, связанных с ПИО [5–7]. В свою очередь существование функционирования последней невозможно без микробиомной палитры кишечника, что было продемонстрировано в опубликованной в 2010 г. в журнале Nature работе «Наш другой геном» (Our “other” genome). Именно тогда в контексте международных исследований начался активный пересмотр этиологических звеньев и патогенетических механизмов ряда инфекционных и неинфекционных заболеваний с учетом новых данных о микробиоме человека [8]. Указанное исследование нашло широкое практическое применение, заключавшееся в разработке современных протоколов лечения, разработке новых групп лекарственных средств и пересмотре подходов к лечению и профилактике хронических прогрессирующих болезней печени, что в совокупности может быть расценено как революционное событие в области гепатологии.

В то же время роль ПИО при том или ином патологическом процессе нередко была переоценена. Так, время от времени данная концепция стимулировала появление огромного количества ожидаемых, а также неожиданных научных заключений и выводов. Со временем все большее значение в функционировании ПИО стало придаваться кишечной микробиоте, функционированию кишечного барьера, врожденному иммунному ответу слизистых оболочек кишечника, переносу антигенов из печени в кишечник, поражению самой печени инфекционными паттернами и в конечном итоге метаболическим повреждениям [2, 9]. В связи с этим, а также в связи с постоянно возрастающим интересом к новому, «виртуальному», органу человека в последние годы было получено множество косвенных доказательств важной роли ПИО в таком процессе, как отторжение печеночного трансплантата, и ее теоретической значимости в развитии инфекционных осложнений после трансплантации печени [10]. В литературе последних лет все чаще встречаются работы, посвященные роли ПИО и кишечного микробиома в развитии посттрансплантационных осложнений и способам их профилактики [11].

Сегодня известно, что ПИО функционирует за счет двусторонних векторных связей, опосредованных взаимодействием между кишечником и его микробиотой и непосредственно печенью. Однако в последние годы кишечный микробиом принято рассматривать как самостоятельно функционирующую среду, способную изолированно внести дисбаланс в работу оси и, соответственно, в гомеостаз организма [12, 13].

Данное двунаправленное взаимодействие осуществляется за счет важных анатомических, физиологических и гуморальных компонентов, наиболее значимыми из которых являются два пути взаимодействия:

1) путь кишечник–печень, за счет которого осуществляется транспозиция через воротную вену в печень не только продуктов жизнедеятельности микроорганизмов, колонизирующих кишечник, но и их патоген-ассоциированных паттернов и непосредственно самих бактерий и их токсинов;

2) обратный путь – печень–кишечник (так называемый *feed-back route*), посредством которого осуществляется транслокация желчных и жирных кислот, антител, продуцируемых в печени, и др.

В свою очередь важнейшим связующим звеном в данном взаимоотношении является «кишечно-сосудистый» барьер, представляющий собой анатомо-физиологический барьер, связывающий печень и кишечник посредством функциональной диффузии питательных веществ и необходимых продуктов питания и предотвращающий попадание бактерий и других микроорганизмов в портальный кровоток [12]. Данный барьер может быть разделен на два составляющих компонента: «сосудистый» барьер, не позволяющий бактериальным организмам проникать сквозь стенку эндотелиоцитов, и «эпителиальный», заключающийся в отграничении микробиома кишечника, в том числе с помощью муцина, от собственной стенки кишечника.

Плотные контакты между клетками эпителия кишечной стенки представляют собой естественный барьер для бактерий и продуктов их метаболизма. Антигены, которые проходят через этот барьер, распознаются дендритными клетками и активируют иммунную систему, модулируя ответ с помощью Т-клеток иммунной системы. Попавшие в портальный кровоток и далее транслоцированные в печень минимальные концентрации патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (PAMPs), таких как липополисахариды, пептидогликаны и флагелин, активируют «ядерный фактор каппа В» (NF κ B) с помощью толл-подобных (TLR) и узловых рецепторов (NLR), что приводит к выработке воспалительных цитокинов и хемокинов [14, 15]. Помимо повреждения гепатоцитов, PAMPs могут активировать звездчатые клетки, участвующие в стимулировании и прогрессировании фиброза печени. Следует отметить, что данное состояние, развивающееся после перенесенной трансплантации, сегодня также находится в зоне повышенного интереса исследователей по всему миру, что во многом обусловлено отсутствием четкого понимания многих механизмов, связанных с фиброзом трансплантата печени в случаях, когда у реципиента не имеется других объективных причин его развития. Таким образом, становится понятно, что ПИО в значительной степени влияет на патогенез прогрессирования заболеваний печени, включая также патогенез заболеваний после трансплантации. Это придает особую значимость клиническим исследованиям в этом направлении [3].

Учитывая изложенное выше, нами было инициировано собственное пилотное проспективное исследование.

Цель исследования – изучение влияния микробиомной палитры толстого кишечника на течение основного заболевания печени, а также определение ее вклада в развитие ранних осложненных посттрансплантационного периода.

Материалы и методы исследования. Проведено проспективное рандомизированное обсервационное исследование, в основу которого легли результаты обследования 12 пациентов, перенесших ортотопическую трансплантацию печени по поводу цирроза печени различной этиологии. Все пациенты были госпитализированы с диагнозом цирроз печени и цирроз печени с гепатоцеллюлярным раком. Один пациент был госпитализирован с аутосомно-доминантным поликистозом печени и почек, приведшим к печеночной недостаточности.

Два пациента были исключены из анализа по причине сопутствующего энтероколита. В исследование не включали пациентов с ранее перенесенными оперативными вмешательствами на органах желудочно-кишечного тракта и воспалительными заболеваниями кишечника ввиду доказанного изменения у них микробиомного состава кишечника. Для проведения сравнения микробиоты кишечника был использован метод секвенирования нового поколения (16RNA NGS). У всех пациентов осуществлялся забор биоматериала за 1–2 дня до трансплантации печени и на 2–3-й и 7–10-й день после ее трансплантации. Для статистической обработки использовали стандартный *t*-критерий Стьюдента. Исследования проводили путем сопоставления пациентов различных функциональных групп тяжести согласно классификации Child–Turcotte–Pugh.

Результаты исследования. Как известно, ПИО оказывает значимое влияние на патогенез развития различных заболеваний печени, в том числе хронических вирусных гепатитов, неалкогольного стеатогепатита, алкогольной болезни печени и многих других [4].

В то же время различными авторами выдвигается ряд иногда противоречивых гипотез в отношении триггерных механизмов видоизменения микробиоты кишечника. К примеру, известна

концепция влияния антибактериальных препаратов на микробиомную палитру кишечника. В то же время рядом исследований данная концепция опровергается. Так, Cristina Solé в своей работе указала на отсутствие данной взаимосвязи [6].

Кроме того, существуют и гипотезы о имеющихся различиях в составе микробиоты у пациентов с печеночной декомпенсацией разных функциональных групп печеночной декомпенсации, особенно при развившемся ACLF синдроме. К тому же сообщения последних лет указывают на отсутствие различий в микробиоме в пределах одной нозологической формы у пациентов с циррозом печени, что коррелирует с полученными нами данными. В нашем исследовании не наблюдалось статистически достоверных различий в отношении микробиоты кишечника у пациентов одной нозологической группы.

Полученные нами данные об отсутствии указанных различий в таксонометрических показателях у пациентов с циррозом печени коррелируют с результатами работ последних лет (рис. 1).

Нами не выявлено статистически достоверных различий в микробиомной палитре и у пациентов, перенесших трансплантацию печени и изначально находившихся в разных функциональных классах тяжести (рис. 2). Однако следует отметить, что ни у кого из них не развилось каких-либо осложнений. Данный факт имеет важное значение в аспекте изменения архитектуры

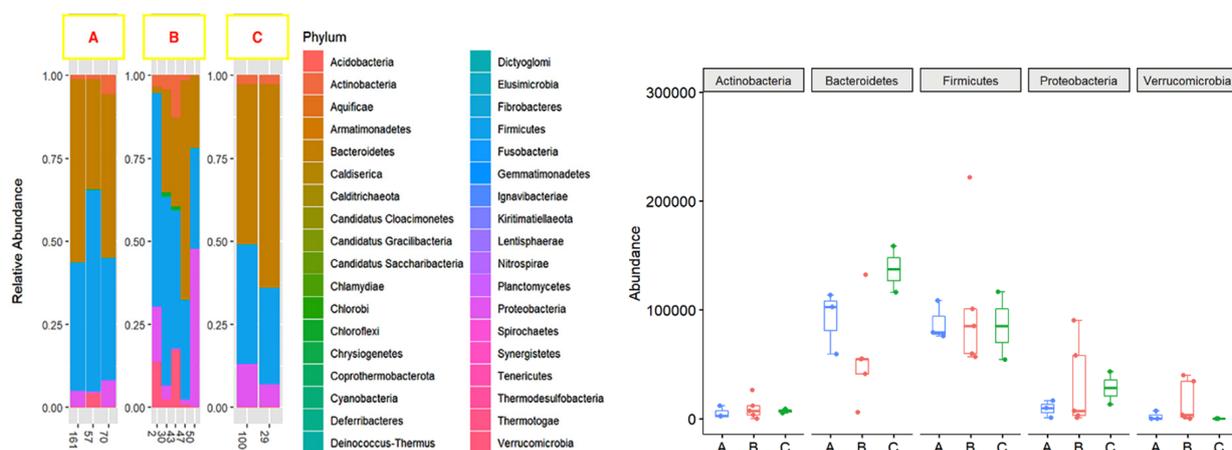


Рис. 1. Таксонометрические показатели микробиоты кишечника у пациентов с циррозом печени до трансплантации печени (A, B, C – функциональные классы тяжести цирроза печени по Child–Turcotte–Pugh)

Fig. 1. Taxonomic intestinal microbiota indicators in liver cirrhosis patients before liver transplantation (A, B, C – functional classes of liver cirrhosis severity according to Child–Turcotte–Pugh score)

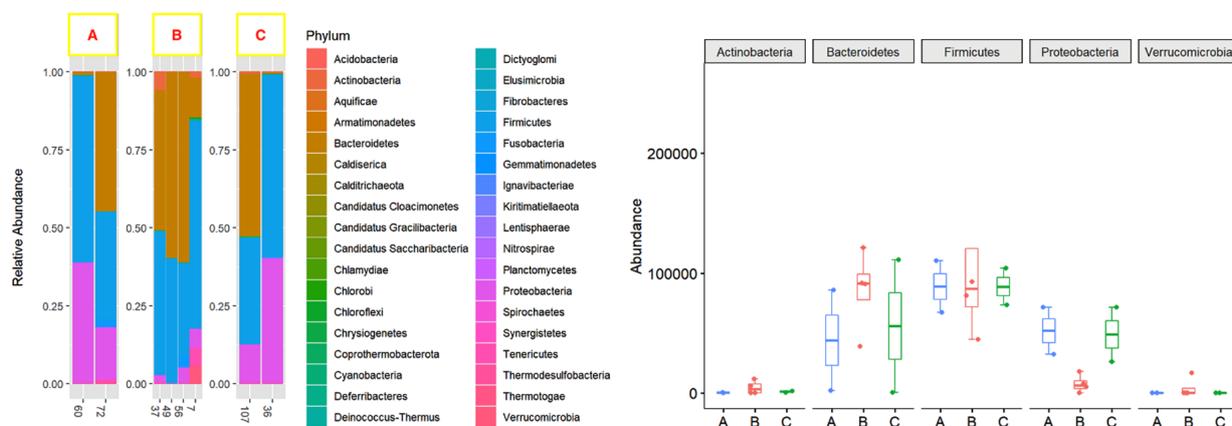


Рис. 2. Таксонометрические показатели микробиоты кишечника у пациентов с циррозом после трансплантации печени (A, B, C – функциональные классы тяжести цирроза печени по Child–Turcotte–Pugh)

Fig. 2. Taxonomic intestinal microbiota indicators in liver cirrhosis patients after liver transplantation (A, B, C – functional classes of liver cirrhosis severity according to Child–Turcotte–Pugh score)

микробиома, особенно после пересадки печени и развития осложнений раннего посттрансплантационного периода.

Обсуждение. Как указывалось выше, кишечно-сосудистый барьер играет основную роль в транслокации микробиомных паттернов в воротный кровоток. Так, поверхность кишечника не только является физическим барьером, предотвращающим транслокацию бактерий в воротный кровоток, но и защищена многочисленными функциональными и иммунными механизмами, одним из которых является слой слизи, покрывающий эпителий и состоящий из внутреннего и внешнего слоев гликозилированных молекул муцина [12, 14, 16, 17]. Известно, что муцин-2 (Muc-2) является наиболее доминантной молекулой в слизи, обволакивающей кишечник, и избирательно секретруется бокаловидными клетками. В то же время данная молекула не встречается в тканях печени, а ее потеря приводит к разрушению слизистого барьера, что в экспериментальных моделях на животных неизбежно влечет за собой развитие воспалительных заболеваний кишечника и массивную транслокацию бактерий в портальный кровоток [15, 18]. В свою очередь слой защитного муцина сам состоит из двух слоев, обладающих различными функциями. Так, на поверхности внешнего слоя располагается кишечный микробиом, который обильно колонизирует кишечник и является важнейшим звеном поддержания гомеостаза внутренней биосреды человека. Бактерии и микроорганизмы фиксируются к внешнему слою, что позволяет кишечному микробиому персистировать в органе и не быть эвакуированным перистальтическими движениями и жидкостным компонентом содержимого кишечника. Внутренний, прочно прикрепленный слой слизи, состоящий из мембраносвязанных муцинов, прилипает к апикальной стороне эпителиальных клеток и способствует образованию гликокаликса – полисахаридного матрикса, покрывающего поверхность эпителиальных клеток кишечника. Данный слой слизи богат антимикробными протеинами типа Iyrd-8 и лицетин-подобным протеином ZG16. Эти протеины взаимодействуют с бактериями, предотвращая тем самым их дальнейшую пенетрацию [12, 19, 20]. Непосредственно под слоем слизи кишечный барьер представлен монослоем эпителиальных клеток – энтероцитами, бокаловидными и энтерохлаффинными клетками [12]. Взаимодействие этих клеток направлено на защиту стенки кишечника от микробной инвазии. Как упоминалось выше, этот барьер несет также и физическую функциональность, поскольку эпителиальные клетки соединены друг с другом плотными соединениями (так называемыми TJ – tight junctions), обладающими электрическим потенциалом. Так, щеточная кайма заряжена отрицательно и противостоит отрицательному заряду микробиоты, при этом защитные свойства осуществляются и посредством химических регуляций за счет высвобождения ряда антимикробных пептидов. Кроме того, на слизистой оболочке представлен и ряд иммунных клеток, выполняющих фагоцитарную функцию [21–25].

В то же время собственная пластинка данного слоя богата плазматическими клетками, которые выделяют иммуноглобулины типа А, а также выполняют антимикробную функцию. В этой связи присутствие бактерий в собственной пластинке можно обнаружить только при повреждении защитных барьерных механизмов. Важным защитным механизмом кишечной стенки является ее способность продуцировать антимикробные антигены [12, 23, 24, 26]. Так, клетки Панета, располагающиеся на дне кишечных крипт тонкого кишечника, секретуют несколько антимикробных молекул, включая так называемые дефенсины – кателицидин, лизоцим и лектины С-типа [27]. Помимо клеток Панета в кишечной стенке большое количество структур синтезируют подобного рода антимикробные компоненты белковой структуры [17]. Последние нацелены на нейтрализацию бактерий посредством распознавания поверхностных молекул бактериальной стенки, таких как пептидогликан грамположительных бактерий, и внешней мембраны грамотрицательных бактерий. В этой связи внутренний слой слизи является практически стерильным [12, 14, 16, 20].

В физиологических условиях в некомпрометированном организме лишь небольшая часть бактерий может пенетрировать сквозь стенку кишечника в системный кровоток. В некоторых случаях бактерии в указанных условиях достигают брыжеечных лимфатических узлов, которые, как известно, функционируют как пограничные иммунные зоны, также предотвращая попадание микробов в системный кровоток [28]. Этот барьер является частичным проявлением

функционирования сосудистого барьера кишечника, который не позволяет бактериям проникать в портальную систему кровообращения и достигать печени [19].

Указанные выше механизмы являются подтверждением того, что нарушение кишечного и сосудистых барьеров может приводить к транслокации бактерий и их продуктов в портальную систему и печень, а в конечном итоге – к инициации соответствующих реактивных процессов, что может играть критически важную роль у пациентов, перенесших трансплантацию.

Микробиом кишечника. В ходе эволюции человека продолжалась и эволюция микроорганизмов, приведшая сегодня к формированию сложной и многообразной экосистемы. Кишечник человека густо заселен триллионами бактерий, принадлежащих к нескольким сотням различных видов. Несмотря на значительное разнообразие видов микроорганизмов в составе микробиоты, большинство ее представителей принадлежит только к четырем типам современной биологической систематики: Bacteroidetes, Firmicutes, Actinobacteria и Proteobacteria [8, 29].

Типы Firmicutes и Bacteroidetes составляют более 90 % бактериальной популяции в толстом кишечнике, где плотность микробиоты наибольшая [8]. В пищеварительном тракте человека обитает в среднем 10^{13} микроорганизмов, что примерно равно количеству клеток в организме [30]. Это бактерии, вирусы, паразиты и непатогенные грибы, составляющие кишечную микробиоту человека. Работы последних лет позволили определить значимость ее роли в жизнедеятельности организмов, однако многие элементы связи между дисбалансом микробиоты и определенными патологиями человека, в том числе аутоиммунного, воспалительного и инфекционного характера, по-прежнему не известны (Unité INSERM). Под микробиотой понимают все микроорганизмы – бактерии, вирусы, паразиты и непатогенные грибы, которые живут в определенной среде. Кишечная микробиота самая «заселенная» – в организме человека обитает от 10^{12} до 10^{14} микроорганизмов [7, 8, 29, 31]. При этом большая часть их располагается в толстом кишечнике, поскольку кислотность желудочного сока неблагоприятна для большинства микроорганизмов, а в желудке бактерий в 100 млн раз меньше, чем в толстой кишке. Микробиота выполняет множество функций, включая иммунную, и принимает непосредственное участие в пищеварении, синтезе витаминов, всасывании жирных кислот, кальция, магния и др. Кроме того, микробиота влияет на общее функционирование пищеварительного тракта [29]. К примеру, в экспериментальных моделях у аксенических животных резко замедляются перистальтические движения в пищеварительном тракте, нарушается дифференцировка клеток в стенке кишечника, резко снижается местный тканевой иммунитет. Результаты исследований показывают, что иммунная система аксенических мышей также претерпевает значимые изменения. Так, их Пейеровы бляшки, играющие главенствующую роль в рециркуляции лимфоцитов, отличаются своей незрелостью и дистрофическими изменениями, а количество лимфоцитов при этом снижено [17]. К тому же у животных, лишенных микробиома, отмечается выраженное изменение в структуре и функционировании селезенки и лимфатической системы, играющих важнейшую роль в иммунном статусе организма.

Указанное выше подчеркивает критическую роль микробиоты кишечника в поддержании гомеостаза кишечника. Известно, что подавляющее большинство бактерий толстой кишки являются строгими анаэробами, которые способны, по сути, выполнять сахаролитическое брожение неперевариваемых субстратов из пищевых волокон. При этом выделяются два наиболее значимых метаболических паттерна, связанных с функционированием кишечной микробиоты, – производство короткоцепочечных жирных кислот (SCFA) и метаболизм желчных кислот [3, 30, 32]. SCFA являются основными продуктами метаболизма анаэробной ферментации с общими концентрациями от 50 до 200 мМ в толстой кишке. Последние могут связываться со специфическими иммунологическими рецепторами и, следовательно, использоваться в качестве источников энергии, как регуляторы экспрессии генов для целостности эпителия и иммунологических взаимодействий [33]. Другой важной функцией микробиоты кишечника является образование желчных кислот, литохолевой и дезоксихолевой кислот посредством 7 α -дегидроксилирования первичных желчных кислот, хенодезоксихолевой и холевой кислот. Вторичные желчные кислоты, продуцируемые посредством 7 α -дегидроксилирования, пассивно всасываются в толстом кишечнике и посредством ПИО возвращаются в печень. В то же время микробиота кишечника принимает

участие в гидролизе солей желчных кислот с помощью нескольких таксонов, в частности *Bifidobacterium*, род *Bacteroides*, относящихся к типу Бактериоиды, и родов *Clostridium*, *Lactobacillus* и *Listeria*, относящихся к типу Фирмикуты. Благодаря указанным функциям микробиота кишечника играет важную роль в реализации как метаболической функции (энергетический метаболизм, связанный с метаболитами желчных кислот), так и антимикробной (антимикробное действие, связанное с метаболитами желчных кислот). Эти особенности и определяют саму концепцию оси кишечник–печень [3, 12, 33]. Анатомические и функциональные двунаправленные отношения между микробиотой кишечника и печенью, как упоминалось выше, управляются посредством портального крово- и лимфообращения [3, 34]. Нарушение этого важного баланса часто связано с нарушениями целостности кишечника и с микробным дисбактериозом. При этом следует отметить, что дисбиоз, представляя собой изменение количества микробов (с дисбалансом между таксонами) и/или изменение разнообразия микробиоты из-за определенных заболеваний, по всей видимости, оказывает менее выраженное влияние на функционирование оси [3].

Микробиом и воротный кровоток. Печень является не только пассивным реципиентом кишечных бактерий и их продуктов, поступающих через портальную систему, но и активным регулятором их количества и микробиологических характеристик непосредственно в самом кишечнике, осуществляя формирование сложной архитектуры микробиома посредством комплекса иммунобиологических регуляторных процессов. К примеру, клетки Купфера, резидентные макрофаги печени играют главенствующую роль в элиминации попавших в печень бактерий [32]. В то же время схожую функцию выполняют и нейтрофилы, количество которых в печени в физиологических условиях невелико, но резко увеличивается за счет тканевого хемотаксиса во время острого воспаления и/или других провоцирующих факторов. В то же время, несмотря на значительный прогресс в понимании патофизиологических и иммунологических процессов с участием нейтрофилов и других клеток иммунного ответа на миграцию бактерий и бактериальных паттернов, а также механизмов их фагоцитарной активности, наиболее изученными сегодня остаются клетки Купфера. В вакуолях последних были обнаружены липополисахариды, являющиеся частью клеточной стенки грамотрицательных бактерий, что является прямым доказательством их первоочередной функции в качестве фагоцитов инфекционного ответа. Однако даже в отношении макрофагов ряд процессов, в частности таких, как их поляризация, активация подтипов M1, M2, по-прежнему не до конца изучены [35–37].

В исследовании, проведенном Y. Ebe, клетки Купфера активировались в ответ на инфекцию, но в то же время длительная персистенция инфекционного агента, истощавшая ресурсы этих клеток, приводила к резкому увеличению смертности экспериментальных животных. Этот так называемый fast track – путь захвата и уничтожения бактерий в печени – частично опосредуется рецепторами на тканевых макрофагах, именуемых scavenger receptors, или «рецепторами мусорщиков» [14]. Однако таким путем (без необходимости присутствия антибактериальных антител) удаляются неопсонизированные бактерии. В дополнение к SR рецепторам купферовских клеток, которые распознают как грамположительные, так и грамотрицательные бактерии, бактерии подвергаются элиминации и за счет еще одного элемента врожденного иммунитета – рецептора компонента иммуноглобулинов комплемента, который вносит свой вклад в захват грамположительных бактерий. При этом представляется интересным, что взаимодействие между липотейхоевой кислотой, представленной на грамположительных бактериях, и рецептором комплемента не зависит от белков комплемента и механизмов опсонизации. Таким образом, понимание степени участия различных рецепторов захвата бактерий позволит объяснить способность клеток Купфера захватывать бактерии в условиях постоянного ламинарного потока, напоминающего синусоидальное движение крови, в отличие от других тканевых макрофагов, которые могут захватывать бактерии только в статических условиях [38]. Несмотря на значимость и важность быстрого и эффективного удаления бактерий и их продуктов, сохранение некоторой части бактерий в качестве антигена имеет важное значение для инициирования адаптивных иммунных ответов. Именно в этом аспекте функционирования иммунного ответа имеет значение и второй, векторный, или «медленный», путь обработки транслоцированных бактерий, что позволяет небольшому проценту опсонизированных бактерий вызывать Т-клеточно опосредованный ответ

за счет активации дендритных клеток CD8 [39]. Указанный механизм особенно важен для развития стойкого иммунитета. Так, на примере листериоза повторное инфицирование можно предотвратить только с помощью листерия-специфических CD8 T-клеток.

Заключение. Приведенные данные, а также результаты собственных наблюдений указывают на высокую значимость печеночно-интестинальной оси в патогенезе болезней печени и, в частности, в процессах реконвалесценции после перенесенной трансплантации печени. К тому же многие молекулярные и иммунологические механизмы ответа на нарушение баланса функционирования печеночно-интестинальной оси по-прежнему не до конца изучены. Данный факт диктует острую необходимость дальнейших исследований в данном направлении, имеющих ключевое значение как в научной, так и в клинической трансплантологии и медицине в целом.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. IgA antibodies to dietary antigens in liver cirrhosis / U. Volta [et al.] // *Ric. Clin. Lab.* – 1987. – Vol. 17, N 3. – P. 235–242. <https://doi.org/10.1007/BF02912537>
2. Vajros, P. Microbiota and gut-liver axis: their influences on obesity and obesity-related liver disease / P. Vajros, G. Paolella, A. Fasano // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* – 2013. – Vol. 56, N 5. – P. 461–468. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e318284abb5>
3. The interplay between gut microbiota and the immune system in liver transplant recipients and its role in infections / G. Ancona [et al.] // *Infect. Immun.* – 2021. – Vol. 89, N 11. – P. e0037621. <https://doi.org/10.1128/IAI.00376-21>
4. Gut microbiota, and its modulation in the management of liver diseases: a review of the literature / I. Milosevic [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20, N 2. – P. 395. <https://doi.org/10.3390/ijms20020395>
5. Tilg, H. Liver tissue microbiome in NAFLD: next step in understanding the gut-liver axis? / H. Tilg, R. Burcelin, V. Tremaroli // *Gut.* – 2020. – Vol. 69, N 8. – P. 1373–1374. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2019-320490>
6. Alterations in gut microbiome in cirrhosis as assessed by quantitative metagenomics: relationship with acute-on-chronic liver failure and prognosis / C. Solé [et al.] // *Gastroenterology.* – 2021. – Vol. 160, N 1. – P. 206–218.e13. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.08.054>
7. Lee, G.-H. Hepatic encephalopathy in acute-on-chronic liver failure / G.-H. Lee // *Hepatology.* – 2015. – Vol. 9, N 4. – P. 520–526. <https://doi.org/10.1007/s12072-015-9626-0>
8. Стома, И. О. Микробиом человека / И. О. Стома, И. А. Карпов ; Белорус. гос. мед. ун-т, Минск. науч.-практ. центр хирургии, трансплантологии и гематологии. – Минск : Доктор Дизайн, 2018. – 122 с.
9. Blesl, A. The gut-liver axis in cholestatic liver diseases / A. Blesl, V. Stadlbauer // *Nutrients.* – 2021. – Vol. 13, N 3. – Art. 1018. <https://doi.org/10.3390/nu13031018>
10. Disruption of the gut microbiota with antibiotics exacerbates acute vascular rejection / K. Rey [et al.] // *Transplantation.* – 2018. – Vol. 102, N 7. – P. 1085–1095. <https://doi.org/10.1097/TP.0000000000002169>
11. Influence of the microbiome on solid organ transplant survival / I. Pirozzolo [et al.] // *J. Heart Lung Transplant.* – 2021. – Vol. 40, N 8. – P. 745–753. <https://doi.org/10.1016/j.healun.2021.04.004>
12. Albillos, A. The gut-liver axis in liver disease: pathophysiological basis for therapy / A. Albillos, A. de Gottardi, M. Rescigno // *J. Hepatology.* – 2020. – Vol. 72, N 3. – P. 558–577. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2019.10.003>
13. Kim, S.-I. Bacterial infection after liver transplantation / S.-I. Kim // *World J. Gastroenterol.* – 2014. – Vol. 20, N 20. – P. 6211–6220. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i20.6211>
14. Brandl, K. Gut-liver axis at the frontier of host-microbial interactions / K. Brandl, V. Kumar, L. Eckmann // *Am. J. Physiol.-Gastrointest. Liver Physiol.* – 2017. – Vol. 312, N 5. – P. G413–G419. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00361.2016>
15. Muc2-deficient mice spontaneously develop colitis, indicating that MUC2 is critical for colonic protection / M. Van der Sluis [et al.] // *Gastroenterology.* – 2006. – Vol. 131, N 1. – P. 117–129. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2006.04.020>
16. Gram-positive bacteria are held at a distance in the colon mucus by the lectin-like protein ZG16 / J. H. Bergström [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2016. – Vol. 113, N 48. – P. 13833–13838. <https://doi.org/10.1073/pnas.1611400113>
17. Paneth cells secrete lysozyme via secretory autophagy during bacterial infection of the intestine / S. Bel [et al.] // *Science.* – Vol. 357, N 6355. – P. 1047–1052. <https://doi.org/10.1126/science.aal4677>
18. Colorectal cancer in mice genetically deficient in the mucin Muc2 / A. Velcich [et al.] // *Science.* – 2002. – Vol. 295, N 5560. – P. 1726–1729. <https://doi.org/10.1126/science.1069094>
19. Spadoni, I. Organ-specific protection mediated by cooperation between vascular and epithelial barriers / I. Spadoni, G. Fornasa, M. Rescigno // *Nat. Rev. Immunol.* – 2017. – Vol. 17, N 12. – P. 761–773. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.100>
20. The antibacterial lectin RegIIIgamma promotes the spatial segregation of microbiota and host in the intestine / S. Vaishnava [et al.] // *Science.* – 2011. – Vol. 334, N 6053. – P. 255–258. <https://doi.org/10.1126/science.1209791>
21. Romanque, U. P. A. Molecular mechanisms in liver ischemic-reperfusion injury and ischemic preconditioning / U. P. Romanque, M. M. Uribe, L. A. Videla // *Rev. Med. Chil.* – 2005. – Vol. 133, N 4. – P. 469–476. <https://doi.org/10.4067/s0034-98872005000400012>

22. Suzuki, T. Regulation of the intestinal barrier by nutrients: The role of tight junctions / T. Suzuki // *Anim. Sci. J.* – 2020. – Vol. 91, N 1. – P. e13357. <https://doi.org/10.1111/asj.13357>
23. Suzuki, T. Regulation of intestinal epithelial permeability by tight junctions / T. Suzuki // *Cell Mol. Life Sci.* – 2013. – Vol. 70, N 4. – P. 631–659. <https://doi.org/10.1007/s00018-012-1070-x>
24. Dokladny, K. Intestinal epithelial barrier function and tight junction proteins with heat and exercise / K. Dokladny, M. N. Zuhl, P. L. Moseley // *J. Appl. Physiol.* – 2016. – Vol. 120, N 6. – P. 692–701. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00536.2015>
25. Allam-Ndoul, B. Gut Microbiota and Intestinal Trans-Epithelial Permeability / B. Allam-Ndoul, S. Castonguay-Paradis, A. Veilleux // *Int. J. Mol. Sci.* – 2020. – Vol. 21, N 17. – P. 6402. <https://doi.org/10.3390/ijms21176402>
26. Camus, C. Complications infectieuses chez le transplanté hépatique / C. Camus // *Réanimation.* – 2014. – Vol. 23. – P. 317–326. <https://doi.org/10.1007/s13546-014-0888-7>
27. Peterson, L. W. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis / L. W. Peterson, D. Artis // *Nat. Rev. Immunol.* – 2014. – Vol. 14, N 3. – P. 141–153. <https://doi.org/10.1038/nri3608>
28. Moore, W. E. Human fecal flora: the normal flora of 20 Japanese-Hawaiians / W. E. Moore, L. V. Holdeman // *Appl. Microbiol.* – 1974. – Vol. 27, N 5. – P. 961–979. <https://doi.org/10.1128/am.27.5.961-979.1974>
29. The Gut-liver Axis in Immune Remodeling: New insight into Liver Diseases / X. Yang [et al.] // *Int. J. Biol. Sci.* – 2020. – Vol. 16, N 13. – P. 2357–2366. <https://doi.org/10.7150/ijbs.46405>
30. Doré, J. Le microbiote intestinal humain / J. Doré, G. Corthier // *Gastroenterol. Clin. Biol.* – 2010. – Vol. 34, suppl. 1. – P. S7–S15. [https://doi.org/10.1016/S0399-8320\(10\)70015-4](https://doi.org/10.1016/S0399-8320(10)70015-4)
31. Holdeman, L. V. Human fecal flora: variation in bacterial composition within individuals and a possible effect of emotional stress / L. V. Holdeman, I. J. Good, W. E. Moore // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1976. – Vol. 31, N 3. – P. 359–375. <https://doi.org/10.1128/aem.31.3.359-375.1976>
32. Yu, L.-X. The gut microbiome and liver cancer: mechanisms and clinical translation / L. X. Yu, R. F. Schwabe // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* – 2017. – Vol. 14, N 9. – P. 527–539. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.72>
33. Kim, C. H. Gut microbiota-derived short-chain fatty acids, T cells, and inflammation / C. H. Kim, J. Park, M. Kim // *Immune Network.* – 2014. – Vol. 14, N 6. – P. 277–288. <https://doi.org/10.4110/in.2014.14.6.277>
34. Acharya, C. Microbiota, cirrhosis, and the emerging oral-gut-liver axis / C. Acharya, S. E. Sahingur, J. S. Bajaj // *JCI Insight.* – 2017. – Vol. 2, N 19. – P. e94416. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.94416>
35. Merritt, M. E. Effect of bile salts on the DNA and membrane integrity of enteric bacteria / M. E. Merritt, J. R. Donaldson // *J. Med. Microbiol.* – 2009. – Vol. 58, pt. 12. – P. 1533–1541. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.014092-0>
36. Microbiota-dependent crosstalk between macrophages and ILC3 promotes intestinal homeostasis / A. Mortha [et al.] // *Science.* – 2014. – Vol. 343, N 6178. – Art. 1249288. <https://doi.org/10.1126/science.1249288>
37. Chemopreventive effects of phytochemicals and medicines on M1/M2 polarized macrophage role in inflammation-related diseases / Y.-C. Koh [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2018. – Vol. 19, N 8. – Art. 2208. <https://doi.org/10.3390/ijms19082208>
38. Llorente, C. Fast-track clearance of bacteria from the liver / C. Llorente, B. Schnabl // *Cell Host Microbe.* – 2016. – Vol. 20, N 1. – P. 1–2. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2016.06.012>
39. Dual-track clearance of circulating bacteria balances rapid restoration of blood sterility with induction of adaptive immunity / S. P. Broadley [et al.] // *Cell Host Microbe.* – 2016. – Vol. 20, N 1. – P. 36–48. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2016.05.023>

References

1. Volta U., Bonazzi C., Bianchi F. B., Baldoni A. M., Zoli M., Pisi E. IgA antibodies to dietary antigens in liver cirrhosis. *La Ricerca in Clinica e in Laboratorio*, 1987, vol. 17, no. 3, pp. 235–242. <https://doi.org/10.1007/BF02912537>
2. Vajros P., Paoletta G., Fasano A. Microbiota and gut-liver axis: their influences on obesity and obesity-related liver disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 2013, vol. 56, no. 5, pp. 461–468. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e318284abb5>
3. Ancona G., Alagna L., Lombardi A., Palomba E., Castelli V., Renisi G. [et al.]. The interplay between gut microbiota and the immune system in liver transplant recipients and its role in infections. *Infection and Immunity*, 2021, vol. 89, no. 11, p. e0037621. <https://doi.org/10.1128/IAI.00376-21>
4. Milosevic I., Vujovic A., Barac A., Djelic M., Korac M., Radovanovic Spurnic A. [et al.]. Gut microbiota, and its modulation in the management of liver diseases: a review of the literature. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, vol. 20, no. 2, p. 395. <https://doi.org/10.3390/ijms20020395>
5. Tilg H., Burcelin R., Tremaroli V. Liver tissue microbiome in NAFLD: next step in understanding the gut-liver axis? *Gut*, vol. 69, no. 8, pp. 1373–1374. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2019-320490>
6. Solé C., Guilly S., Da Silva K., Llopis M., Le-Chatelier E., Huelin P. [et al.]. Alterations in gut microbiome in cirrhosis as assessed by quantitative metagenomics: relationship with acute-on-chronic liver failure and prognosis. *Gastroenterology*, vol. 160, no. 1, pp. 206–218. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.08.054>
7. Lee G.-H. Hepatic encephalopathy in acute-on-chronic liver failure. *Hepatology International*, vol. 9, no. 4, pp. 520–526. <https://doi.org/10.1007/s12072-015-9626-0>
8. Stoma I. O., Karpov I. A. *Human microbiome*. Minsk, DoktorDizain Publ., 2018. 122 p. (in Russian).
9. Blesl A., Stadlbauer V. The gut-liver axis in cholestatic liver diseases. *Nutrients*, 2021, vol. 13, no. 3, art. 1018. <https://doi.org/10.3390/nu13031018>

10. Rey K., Manku S., Enns W., Van Rossum T., Bushell K., Morin R. D., Brinkman F. S. L., Choy J. C. Disruption of the gut microbiota with antibiotics exacerbates acute vascular rejection. *Transplantation*, 2018, vol. 102, no. 7, pp. 1085–1095. <https://doi.org/10.1097/TP.0000000000002169>
11. Pirozzolo I., Li Z., Sepulveda M., Alegre M.-L. Influence of the microbiome on solid organ transplant survival. *Journal of Heart and Lung Transplantation*, vol. 40, no. 8, pp. 745–753. <https://doi.org/10.1016/j.healun.2021.04.004>
12. Albillos A., de Gottardi A., Rescigno M. The gut-liver axis in liver disease: pathophysiological basis for therapy. *Journal of Hepatology*, 2020, vol. 72, no. 3, pp. 558–577. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2019.10.003>
13. Kim S.-I. Bacterial infection after liver transplantation. *World Journal of Gastroenterology*, 2014, vol. 20, no. 20, pp. 6211–6220. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i20.6211>
14. Brandl K., Kumar V., Eckmann L. Gut-liver axis at the frontier of host-microbial interactions. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, vol. 312, no. 5, pp. G413–G419. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00361.2016>
15. Van der Sluis M., De Koning B. A., De Bruijn A. C., Velcich A., Meijerink J. P., Van Goudoever J. B. [et al.]. Muc2-deficient mice spontaneously develop colitis, indicating that MUC2 is critical for colonic protection. *Gastroenterology*, 2006, vol. 131, no. 1, pp. 117–129. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2006.04.020>
16. Bergström J. H., Birchenough G. M. H., Katona G., Schroeder B. O., Schütte A., Ermund A., Johansson M. E. V., Hansson G. C. Gram-positive bacteria are held at a distance in the colon mucus by the lectin-like protein ZG16. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, vol. 113, no. 48, pp. 13833–13838. <https://doi.org/10.1073/pnas.1611400113>
17. Bel S., Pendsé M., Wang Y., Li Y., Ruhn K. A., Hassell B., Leal T., Winter S. E., Xavier R. J., Hooper L. V. Paneth cells secrete lysozyme via secretory autophagy during bacterial infection of the intestine. *Science*, 2017, vol. 357, no. 6355, pp. 1047–1052. <https://doi.org/10.1126/science.aal4677>
18. Velcich A., Yang W., Heyer J., Fragale A., Nicholas C., Viani S., Kucher-lapati R., Lipkin M., Yang K., Augenlicht L. Colorectal cancer in mice genetically deficient in the mucin Muc2. *Science*, 2002, vol. 295, no. 5560, pp. 1726–1729. <https://doi.org/10.1126/science.1069094>
19. Spadoni I., Fornasa G., Rescigno M. Organ-specific protection mediated by cooperation between vascular and epithelial barriers. *Nature Reviews Immunology*, 2017, vol. 17, no. 12, pp. 761–773. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.100>
20. Vaishnava S., Yamamoto M., Severson K. M., Ruhn K. A., Yu X., Koren O., Ley R., Wakeland E. K., Hooper L. V. The antibacterial lectin RegIII γ promotes the spatial segregation of microbiota and host in the intestine. *Science*, 2011, vol. 334, no. 6053, pp. 255–258. <https://doi.org/10.1126/science.1209791>
21. Romanque U. P., Uribe M. M., Videla L. A. Molecular mechanisms in liver ischemic-reperfusion injury and ischemic preconditioning. *Revista médica de Chile*, vol. 133, no. 4, pp. 469–476. <https://doi.org/10.4067/s0034-98872005000400012>
22. Suzuki T. Regulation of the intestinal barrier by nutrients: The role of tight junctions. *Animal science journal = Nihon chikusan Gakkaiho*, vol. 91, no. 1, p. e13357. <https://doi.org/10.1111/asj.13357>
23. Suzuki T. Regulation of intestinal epithelial permeability by tight junctions. *Cellular and molecular life sciences: CMLS*, vol. 70, no. 4, pp. 631–659. <https://doi.org/10.1007/s00018-012-1070-x>
24. Dokladny K., Zuhl M. N., Moseley P. L. Intestinal epithelial barrier function and tight junction proteins with heat and exercise. *Journal of Applied Physiology*, 2016, vol. 120, no. 6, pp. 692–701. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00536.2015>
25. Allam-Ndoul B., Castonguay-Paradis S., Veilleux A. Gut microbiota and intestinal trans-epithelial permeability. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 21, no. 17, p. 6402. <https://doi.org/10.3390/ijms21176402>
26. Camus C. Complications infectieuses chez le transplanté hépatique. *Réanimation*, 2014, vol. 23, pp. 317–326. <https://doi.org/10.1007/s13546-014-0888-7>
27. Peterson L. W., Artis D. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nature Reviews Immunology*, 2014, vol. 14, no. 3, pp. 141–153. <https://doi.org/10.1038/nri3608>
28. Moore W. E., Holdeman L. V. Human fecal flora: the normal flora of 20 Japanese-Hawaiians. *Applied Microbiology*, 1974, vol. 27, no. 5, pp. 961–979. <https://doi.org/10.1128/am.27.5.961-979.1974>
29. Yang X., Lu D., Zhuo J., Lin Z., Yang M., Xu X. The gut-liver axis in immune remodeling: new insight into liver diseases. *International Journal of Biology Sciences*, 2020, vol. 16, no. 13, pp. 2357–2366. <https://doi.org/10.7150/ijbs.46405>
30. Doré J., Corthier G. Le microbiote intestinal humain. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, 2010, vol. 34, suppl. 1, pp. S7–S15 (in French). [https://doi.org/10.1016/S0399-8320\(10\)70015-4](https://doi.org/10.1016/S0399-8320(10)70015-4)
31. Holdeman L. V., Good I. J., Moore W. E. Human fecal flora: variation in bacterial composition within individuals and a possible effect of emotional stress. *Applied and Environmental Microbiology*, 1976, vol. 31, no. 3, pp. 359–375. <https://doi.org/10.1128/aem.31.3.359-375.1976>
32. Yu L.-X., Schwabe R. F. The gut microbiome and liver cancer: mechanisms and clinical translation. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 2017, vol. 14, no. 9, pp. 527–539. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.72>
33. Kim C. H., Park J., Kim M. 2014. Gut microbiota-derived short-chain fatty acids, T cells, and inflammation. *Immune Network*, 2014, vol. 14, no. 6, pp. 277–288. <https://doi.org/10.4110/in.2014.14.6.277>
34. Acharya C., Sahingur S. E., Bajaj J. S. Microbiota, cirrhosis, and the emerging oral-gut-liver axis. *JCI Insight*, vol. 2, no. 19, p. e94416. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.94416>
35. Merritt M. E., Donaldson J. R. Effect of bile salts on the DNA and membrane integrity of enteric bacteria. *Journal of Medical Microbiology*, 2009, vol. 58, pt. 12, pp. 1533–1541. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.014092-0>
36. Mortha A., Chudnovskiy A., Hashimoto D., Bogunovic M., Spencer S. P., Belkaid Y., Merad M. Microbiota-dependent crosstalk between macrophages and ILC3 promotes intestinal homeostasis. *Science*, 2014, vol. 343, no. 6178, art. 1249288. <https://doi.org/10.1126/science.1249288>

37. Koh Y.-C., Yang G., Lai C.-S., Weerawatanakorn M., Pan M.-H. Chemopreventive effects of phytochemicals and medicines on M1/M2 polarized macrophage role in inflammation-related diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, vol. 19, no. 8, art. 2208. <https://doi.org/10.3390/ijms19082208>

38. Llorente C., Schnabl B. Fast-track clearance of bacteria from the liver. *Cell Host and Microbe*, 2016, vol. 20, no. 1, pp. 1–2. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2016.06.012>

39. Broadley S. P., Plaumann A., Coletti R., Lehmann C., Wanisch A., Seidlmeier A. [et al.]. Dual-track clearance of circulating bacteria balances rapid restoration of blood sterility with induction of adaptive immunity. *Cell Host and Microbe*, 2016, vol. 20, no. 1, pp. 36–48. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2016.05.023>

Информация об авторах

Салимов Умид Равшанович – канд. мед. наук, докторант. Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии (ул. Семашко, 8, 220045, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: ussalimov@gmail.com

Стома Игорь Олегович – д-р мед. наук, профессор, ректор. Гомельский государственный медицинский университет (ул. Ланге, 5, 246000, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: igor.stoma@gmail.com

Ковалев Алексей Алексеевич – ст. преподаватель. Гомельский государственный медицинский университет (ул. Ланге, 5, 246000, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: kovalev.data.analysis.gsmu@yandex.by

Щерба Алексей Евгеньевич – д-р мед. наук, заместитель директора. Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии (ул. Семашко, 8, 220045, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: aleina@tut.by

Штурич Иван Павлович – канд. мед. наук, доцент, заведующий отделением. Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии (ул. Семашко, 8, 220045, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: rcotr@gmail.com

Руммо Олег Олегович – академик, д-р мед. наук, профессор, директор. Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии (ул. Семашко, 8, 220045, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: olegrumm@tut.by

Information about the authors

Umid R. Salimov – Ph. D. (Med.), Doctoral student. Minsk Scientific and Practical Center of Surgery, Transplantation and Hematology (8, Semashko Str., 220045, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ussalimov@gmail.com

Igor O. Stoma – D. Sc. (Med.), Professor, Rector. Gomel State Medical University (5, Lange Str., 246000, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: igor.stoma@gmail.com

Aliaksei A. Kovalev – senior lecturer. Gomel State Medical University (5, Lange Str., 246000, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: kovalev.data.analysis.gsmu@yandex.by

Aliaksei E. Shcherba – D. Sc. (Med.), Deputy Director. Minsk Scientific and Practical Center of Surgery, Transplantation and Hematology (8, Semashko Str., 220045, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: aleina@tut.by

Ivan P. Shturich – Ph. D. (Med.), Associate Professor, Head of the Department. Minsk Scientific and Practical Center of Surgery, Transplantation and Hematology (8, Semashko Str., 220045, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: rcotr@gmail.com

Oleg O. Rummo – Academician, D. Sc. (Med.), Professor, Director. Minsk Scientific and Practical Center of Surgery, Transplantation and Hematology (8, Semashko Str., 220045, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: olegrumm@tut.by

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 612.015.6.161.2:616.98:578.834.1SARS-CoV-2(470+476)

Поступила в редакцию 02.06.2022

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-4-424-432>

Received 02.06.2022

**Т. Л. Каронова¹, Е. В. Руденко², О. А. Радаева³, А. Т. Черникова¹,
К. А. Головатюк¹, Е. В. Шляхто¹**

¹*Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова,
Санкт-Петербург, Российская Федерация*

²*Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь*

³*Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарева, Саранск, Российская Федерация*

ОБЕСПЕЧЕННОСТЬ НАСЕЛЕНИЯ ВИТАМИНОМ D В ПЕРИОД ПАНДЕМИИ COVID-19: ОПЫТ РОССИИ И БЕЛАРУСИ

Аннотация. В период пандемии COVID-19 сохраняется высокая распространенность дефицита и недостаточности витамина D. Так, исследования, выполненные в Российской Федерации и Республике Беларусь в течение последних 3 лет, показали преобладание дефицита и недостаточности витамина D в популяции независимо от пола обследованных лиц, географического положения региона и сезона года.

Учитывая известные иммуномодулирующие свойства 25(OH)D в сыворотке крови, целью настоящего обзора было обсуждение накопленных в мире, а также в России и Беларуси данных о возможном вкладе дефицита витамина D в инфицированность, течение и прогноз новой коронавирусной инфекции, а также об эффективности терапии колекальциферолом в профилактике и лечении заболевания. Большинство исследований указывают на наличие отрицательной связи между концентрацией 25(OH)D в сыворотке крови и тяжестью COVID-19 и/или смертностью. Ранее было показано, что уровень 25(OH)D менее 11,4 нг/мл ассоциирован с увеличением риска летальности от коронавирусной инфекции. В то же время данные об использовании терапии колекальциферолом с целью профилактики и лечения COVID-19 противоречивы. Проведенные в России и Республике Беларусь интервенционные исследования малочисленны, однако их результаты указывают на возможную пользу терапии колекальциферолом, что позволяет рассматривать ее в качестве дополнения к основным методам лечения COVID-19.

Ключевые слова: дефицит витамина D, 25(OH)D, коронавирусная инфекция, SARS-CoV-2, COVID-19, колекальциферол

Для цитирования: Обеспеченность населения витамином D в период пандемии COVID-19: опыт России и Беларуси / Т. Л. Каронова [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2022. – Т. 19, № 4. – С. 424–432. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-4-424-432>

**Tatiana L. Karonova¹, Elena V. Rudenco², Olga A. Radaeva³, Alena T. Chernikova¹,
Ksenia A. Golovatyuk¹, Evgeny V. Shlyakhto¹**

¹*Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russian Federation*

²*Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Republic of Belarus*

³*Ogarev Mordovia State University, Saransk, Russian Federation*

VITAMIN D STATUS DURING THE COVID-19 PANDEMIC: THE EXPERIENCE OF RUSSIA AND BELARUS

Abstract. During the COVID-19 pandemic, a high prevalence of vitamin D deficiency and insufficiency remains. Thus, the studies carried out on the territory of the Russian Federation (RF) and the Republic of Belarus over the last 3 years have shown the prevalence of vitamin D deficiency and insufficiency in the population, regardless of the gender of examined persons, the geographic location and the season of the year. Taking into account the known immunomodulatory functions of serum 25(OH)D, the aim of this review was to assess the data that were accumulated in the world, Russia and Belarus and were concerned with a possible contribution of vitamin D deficiency to COVID-19 infection, course and prognosis, as well as with the role of cholecalciferol therapy in prevention and treatment of the disease. Most of the studies demonstrate a negative association between the serum 25(OH)D level and COVID-19 severity and/or mortality. Previously, it has been shown that the serum 25(OH)D level less than 11.4 ng/ml is associated with an increased risk of COVID-19 mortality. At the same time, the results of the studies using cholecalciferol therapy for COVID-19 prevention and treatment are conflicting. Intervention studies in the Russian Federation and the Republic of Belarus are scanty; however, the available data indicate a possible benefit of therapy, which allows it to be considered as an addition to the main methods of treating COVID-19.

Keywords: vitamin D deficiency, 25(OH)D, SARS-CoV-2, COVID-19, coronavirus infection, cholecalciferol

For citation: Karonova T. L., Rudenco E. V., Radaeva O. A., Chernikova A. T., Golovatyuk K. A., Shlyakhto E. V. Vitamin D status during the COVID-19 pandemic: the experience of Russia and Belarus. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2022, vol. 19, no. 4, pp. 424–432 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-4-424-432>

Введение. Принимая во внимание известные плейотропные эффекты витамина D, в период пандемии новой коронавирусной инфекции заметно возрос интерес к проблеме дефицита витамина D и его возможного участия в патогенезе и течении COVID-19. Так, на начало апреля 2022 г., согласно поисковой системе www.pubmed при использовании ключевых слов «vitamin D» и «COVID-19», в период с 1 января 2020 г. нами было обнаружено 1192 публикации, включая обзоры и оригинальные исследования [1]. Как оказалось, большинство из них носит характер ревью ($n = 366$), часть представлена работами в дизайне кросс-секционных исследований и лишь небольшая доля ($n = 21$) приходится на рандомизированные интервенционные исследования.

Как известно, витамин D является одним из важнейших нутриентов, дефицит которого сегодня рассматривается с позиции вовлеченности в патогенетические аспекты развития многих социально значимых заболеваний, включая ожирение, сахарный диабет, аутоиммунные и онкологические заболевания [2–7]. К настоящему времени накоплены знания о так называемых иммуномодулирующих свойствах витамина D [8, 9], что подтверждает возможность его участия как в клеточном, так и в гуморальном иммунном ответе [10–12].

В литературе обсуждается ряд механизмов, посредством которых витамин D, влияя на врожденный клеточный и гуморальный иммунный ответ, определяет снижение риска заражения бактериальной или вирусной инфекцией [11]. Во-первых, одна из функций этого нутриента связана с распознаванием макрофагами патогенных микроорганизмов, что делает его участником врожденного иммунного ответа [10]. Во-вторых, увеличение экспрессии CYP27B1 при активации вирусами специфических Toll- и RIG-I-подобных рецепторов позволяет локально повышать концентрацию активного витамина-гормона D (кальцитриола) в клетках иммунной системы и индуцировать синтез антимикробных пептидов – кателицидина LL-37 [13] и дефензинов [12]. Кроме того, витамин D посредством повышения синтеза ингибитора NF-κB фактора способствует подавлению экспрессии генов провоспалительных цитокинов, а снижение выработки интерлейкина-2, интерферона-γ и стимуляция продукции других цитокинов под влиянием кальцитриола свидетельствует о вовлечении витамина D в регуляцию баланса Th1- и Th2-зависимых путей иммунного реагирования [14]. Это подтверждают и результаты исследований, показавших снижение заболеваемости и тяжести вирусных инфекций, включая респираторные, у лиц с нормальным уровнем обеспеченности витамином D или дополнительно получающих препараты colecalciferol [15–18].

За последние несколько лет, в период пандемии новой коронавирусной инфекции, появились работы, демонстрирующие эффекты витамина D как антагониста избыточной иммунной реакции, определяющей тяжелое течение COVID-19 [19–21]. Так, обнаружено, что в условиях нормального уровня обеспеченности организма витамином D повышение аутофагии при снижении экспрессии TLR2 и TLR4 в моноцитах ассоциировано с более легким течением вирусной инфекции за счет блокирования избыточной аутовоспалительной реакции [22]. Кроме того, установлено, что изменение экспрессии АПФ-2 и активности альдостерон-рениновой системы снижает уровень провоспалительного ангиотензина II, что определяет нивелирование иммунопатогенетического компонента прогрессирования при инфицировании SARS-CoV-2 [22, 23]. Учитывая значимость вторичной бактериальной инфекции в повышении риска летального исхода у пациентов с COVID-19, необходимо отметить и влияние витамина D на липополисахариды (LPS) клеточной стенки грамотрицательных бактерий посредством перепрограммирования эпигенома клеток моноцитарно-макрофагальной системы [24]. В то время как LPS индуцирует клеточный стресс, запуская ранние механизмы врожденного иммунитета, витамин D повышает эффективность более поздних этапов, таких как уничтожение патогенов или инициирование дифференцировки без избыточной провоспалительной сигнализации.

Таким образом, нормализация уровня обеспеченности витамином D может рассматриваться, с одной стороны, как один из возможных способов влияния на инфицирование SARS-CoV-2, с другой – как компонент комплексного терапевтического вмешательства при вирусной инфекции. В связи с этим в условиях пандемии научный и практический интерес представляет изучение распространенности дефицита витамина D и его роли в профилактике инфицированности, течении и исходах новой коронавирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2.

Российская Федерация и Республика Беларусь довольно схожи по географическому положению, что обуславливает идентичность факторов, оказывающих влияние на уровень обеспеченности витамином D, однако особенности питания, образа жизни и распределение населения в крупных городах и сельской местности могут накладывать дополнительные особенности.

Цель настоящей работы – анализ распространенности недостаточности и дефицита витамина D у населения Российской Федерации и Республики Беларусь, а также оценка связи его дефицита с течением и исходами COVID-19 по данным исследований, опубликованным с 2020 по 2022 г.

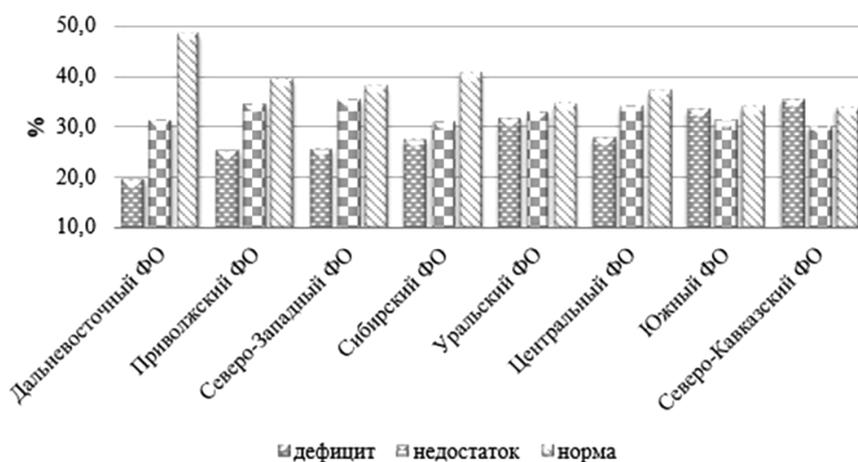
Результаты исследования. Проведен сравнительный анализ результатов исследований, выполненных в Российской Федерации и Республике Беларусь, с данными мировой литературы. На основании исследования, инициированного в 2020 г. и включавшего два периода наблюдений (весна и осень), получены данные о концентрации 25(OH)D в сыворотке крови у 996 субъектов из 10 регионов Российской Федерации. Результаты этого неинтервенционного исследования показали наличие дефицита или недостаточности витамина D в 72,0 % случаев и нормального его уровня лишь у 28,0 % обследованных [25]. Кроме того, авторами установлены существенные различия в уровне 25(OH)D в сыворотке крови в зависимости от сезона: весной средний показатель составил 18 [11; 26] нг/мл, осенью – 26 [19; 37] нг/мл ($p < 0,000001$). Эти показатели отразились на распределении лиц с дефицитом 25(OH)D: чаще недостаточность и дефицит витамина D встречались весной (84,3 %), чем осенью (62,4 %) ($p < 0,00001$) [25]. Сравнивая полученные авторами данные с ранее опубликованными [26], необходимо отметить сохранение высокой распространенности недостаточности и дефицита витамина D, в то время как доля лиц с нормальным уровнем обеспеченности витамином D не превышала 30 %.

Анализ, проведенный в Республике Беларусь у лиц старше 18 лет по результатам 131 292 тестов на 25(OH)D, выполненных в период с 2019 по 2020 г., показал схожую картину. Так, было установлено, что независимо от возраста и пола у большинства обследованных субъектов средний уровень 25(OH)D был ниже 30 нг/мл (см. таблицу), а недостаточность или дефицит витамина D в максимальном объеме отмечались в зимне-весенний период [27].

Показатели 25(OH)D сыворотки крови и уровень обеспеченности витамином D жителей Республики Беларусь в зависимости от возраста и пола [27]

Serum 25(OH)D level and vitamin D status among the residents of the Republic of Belarus depending on the age and gender [27]

Год	Возрастная группа	Кол-во исследований		Средний уровень 25(OH)D, нг/мл (СО)	Норма/недостаточность или дефицит витамина D	
		всего	в зависимости от пола			
2019	18–44	31 250	М	5709	24,7 ± 12,4	26,1/73,9
			Ж	25 541	25,8 ± 12,8	28,2/71,8
	45–59	12 371	М	2008	25,3 ± 13,3	24,7/75,3
			Ж	10 363	24,8 ± 11,3	25,9/74,1
	60–74	4998	М	781	24,8 ± 10,5	23,0/77,0
			Ж	4217	24,3 ± 10,9	24,2/75,8
	75+	629	М	89	23,6 ± 13,1	25,8/74,2
			Ж	540	23,9 ± 13,0	27,4/72,6
2020	18–44	51 772	М	11 064	26,6 ± 12,8	31,2/68,8
			Ж	40 708	27,6 ± 12,7	34,4/65,6
	45–59	20 417	М	4583	27,7 ± 11,9	34,7/65,3
			Ж	15 834	27,2 ± 11,9	33,8/66,2
	60–74	8845	М	1957	27,3 ± 11,0	33,2/66,8
			Ж	6888	26,2 ± 11,4	31,0/69,0
	75+	1010	М	186	23,4 ± 9,7	23,1/76,9
			Ж	824	24,1 ± 12,8	26,6/73,4



Распространенность дефицита витамина D у жителей Российской Федерации в зависимости от региона проживания [28]

Vitamin D deficiency prevalence in the Russian Federation depending on the residence region [28]

Анализируя факторы, которые способствуют формированию дефицита витамина D у жителей Республики Беларусь, авторы обратили внимание на немодифицируемые факторы в виде неблагоприятных географических ($50^{\circ}00'$ с. ш.) и климатических (облачность до 85 %) условий. В то же время опубликованные в 2021 г. результаты российского исследования, проанализировавшего уровень обеспеченности витамином D населения 8 различных федеральных округов России ($n = 304\ 564$) в период с сентября 2019 г. по октябрь 2020 г., продемонстрировали отсутствие зависимости показателей 25(OH)D от географического региона проживания обследованных [28]. Так, дефицит и недостаточность витамина D были выявлены в 62,9 % случаев и с одинаковой частотой были представлены как в северных, так и в южных регионах России (см. рисунок).

Результаты этого анализа не выявили гендерных различий в распространенности дефицита (у 29,5 % женщин и 27,5 % мужчин, $p > 0,05$) и недостаточности (у 34,0 % женщин и 33,6 % мужчин, $p > 0,05$) витамина D, но продемонстрировали некоторые возрастные особенности. Так, наиболее часто нормальный уровень обеспеченности витамином D встречался у лиц в возрасте до 18 лет (45,6 %), а его дефицит – у лиц старше 75 лет (42,2 %).

Полученные результаты свидетельствуют о схожей высокой распространенности недостаточности и дефицита витамина D у населения России и Беларуси. Необходимо отметить тот факт, что как среди лиц, обследованных в Республике Беларусь, так и среди жителей Российской Федерации были пациенты, принимающие препараты витамина D, однако их долю среди всех обследованных установить в рамках проведенных исследований не представлялось возможным.

Кроме того, отличительной чертой приведенного выше исследования [28] является сопоставление результатов 25(OH)D и данных ПЦР-тестов на SARS-CoV-2, полученных у одних и тех же пациентов в период с 26.03.2020 по 31.10.2020 (506 тестов, $n = 21$). Сравнивая результаты с ранее опубликованными данными исследования, выполненного Н. W. Kaufman с соавт. и продемонстрировавшего наименьший процент инфицирования SARS-CoV-2 у лиц с уровнем 25(OH)D выше 55 нг/мл [29], в России такой закономерности установлено не было. Так, среди обследованных с положительным результатом ПЦР-теста уровень 25(OH)D в сыворотке крови, а также встречаемость недостаточности и дефицита витамина D были аналогичными в сравнении с данными показателями у лиц с отрицательным результатом ПЦР-теста.

Сохраняющаяся высокая распространенность недостаточности и дефицита витамина D в период пандемии новой коронавирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2, явилась предпосылкой для изучения вклада низкого уровня 25(OH)D в инфицированность групп риска и его связи с характером течения и исходами COVID-19. Впервые ассоциацию между низким уровнем обеспеченности витамином D и тяжестью заболевания у больных COVID-19 описали в Китае в начале пандемии. В последующем новые данные были довольно противоречивыми, однако большинство исследователей все же указывают на наличие негативной связи между концентрацией

25(OH)D в сыворотке крови и тяжестью COVID-19 и/или смертностью [30–33]. Результаты пилотного российского исследования, инициированного в НМИЦ им. В. А. Алмазова в конце весны 2020 г., оказались сопоставимыми с данными зарубежных исследователей и продемонстрировали низкий уровень 25(OH)D у больных COVID-19 и среднетяжелое и тяжелое течение заболевания при наименьшем уровне витамина D в случае летального исхода [34]. Проведенный статистический анализ позволил также выявить, что уровень 25(OH)D менее 11,4 нг/мл ассоциирован с увеличением риска летальности от коронавирусной инфекции [33].

Одной из групп высокого риска инфицирования SARS-CoV-2 принято считать медицинских работников инфекционных стационаров, ежедневно сталкивающихся с высокой концентрацией вируса. Исследования, посвященные оценке уровня обеспеченности витамином D работников здравоохранения в период пандемии, малочисленны, а интервенционные исследования единичны. В связи с этим особый интерес представляют результаты исследования, проведенного в Санкт-Петербурге, где на протяжении 3 мес. лица исследуемой группы, в состав которой входили врачи, средний и младший медицинский персонал, получали инициальную дозу колекальциферола в виде 100 000 МЕ с последующим приемом 5000 МЕ/сут, а сопоставимая по полу и возрасту группа контроля находилась на терапии колекальциферолом в дозе 2000 МЕ [35]. Необходимо отметить тот факт, что проведенное исследование инициировано до начала массовой вакцинации, и применение вакцины во время исследования являлось критерием досрочного прекращения участия в нем. Все это подтверждает уникальность исследования и невозможность его повторения в нынешних условиях. Несмотря на небольшую группу, авторам удалось продемонстрировать быстрый подъем концентрации 25(OH)D через 2 недели от начала терапии насыщенными дозами, хорошую переносимость и ассоциацию с бессимптомным или легким течением COVID-19.

Принимая во внимание тот факт, что у большинства инфицированных SARS-CoV-2, по данным литературы, концентрация 25(OH)D в сыворотке крови составляла менее 20 нг/мл, терапия колекальциферолом стала рассматриваться в качестве одного из возможных методов лечения. Так, проведенное в Великобритании многоцентровое исследование показало отсутствие связи между исходной концентрацией 25(OH)D в сыворотке крови и течением COVID-19, а также снижение смертности при ежедневном использовании колекальциферола в дозировке 800–2000 МЕ/сут или 300 000 МЕ (в несколько приемов) [36]. В Испании, по результатам популяционного исследования, установлено снижение риска заражения SARS-CoV-2 у пациентов, получающих терапию колекальциферолом, и достижение уровня 25(OH)D в сыворотке крови ≥ 30 нг/мл в сравнении с нелечеными пациентами [37]. В целом подавляющее большинство других зарубежных исследований показали клинические преимущества терапии разными формами препаратов витамина D при достижении его нормальных значений в сыворотке крови в острый период заболевания [38–40].

Интервенционные исследования с использованием колекальциферола в России и Беларуси малочисленны, а поиск результатов таких исследований довольно затруднен. Даже используя поисковую систему clinicaltrials.gov [41], на начало апреля 2022 г. нам удалось найти только 32 исследования на территории России, из которых только 4 были посвящены COVID-19, и 1 исследование, выполненное в Республике Беларусь. В связи с этим актуальным становится вопрос о проведении дополнительных проспективных исследований, посвященных оценке эффективности применения препаратов колекальциферола в дополнение к основной терапии COVID-19, учитывая высокую распространенность дефицита витамина D и особенности популяций Российской Федерации и Республики Беларусь.

Заключение. Таким образом, в большинстве исследований, в том числе проведенных в России и Беларуси, указывается на высокую распространенность в период пандемии COVID-19 дефицита и недостаточности витамина D как в общей популяции, так и у большинства госпитализированных больных с SARS-CoV-2. В свою очередь наличие у витамина D иммуномодулирующих свойств, наличие связи между низким значением 25(OH)D и тяжелым течением заболевания, а также риском летального исхода от новой коронавирусной инфекции предполагает, что восполнение дефицита витамина D препаратами колекальциферола будет оказывать благоприятное влияние на течение и прогноз COVID-19. Для выбора дозы и длительности терапии необходимо

проведение большего числа интервенционных исследований как в Российской Федерации, так и в Республике Беларусь с использованием различных схем терапии и оценок клинических и лабораторных параметров. Все это позволит дополнить и расширить имеющиеся меры профилактики и лечения COVID-19, а также расширить показания для назначения витамина D.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение № 075-15-2022-301 от 20.04.2022).

Acknowledgements. The study was financially supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Agreement No. 075-15-2022-301 dated April 20, 2022).

Список использованных источников

1. National Library of Medicine [Electronic resource]. – Mode of access: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=covid-19%3B+vitamin+D&filter=years.2020-2021&timeline=expanded&size=100/>. – Date of access: 30.04.2022.
2. Vitamin D and mortality: Individual participant data meta-analysis of standardized 25 hydroxyvitamin D in 26916 individuals from a European consortium / M. Gaksch [et al.] // *PLoS ONE*. – 2017. – Vol. 12, N 2. – P. e0170791. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170791>
3. Tagliabue, E. Vitamin D, cancer risk, and mortality / E. Tagliabue, S. Raimondi, S. Gandini // *Adv. Food Nutr. Res.* – 2015. – Vol. 75. – P. 1–52. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2015.06.003>
4. Al Mheid, I. Vitamin D and cardiovascular disease: Controversy unresolved / I. Al Mheid, A. A. Quyyumi // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2017. – Vol. 70, N 1. – P. 89–100. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2017.05.031>
5. Berridge, M. J. Vitamin D deficiency and diabetes / M. J. Berridge // *Biochem. J.* – 2017. – Vol. 474, N 8. – P. 1321–1332. <https://doi.org/10.1042/bcj20170042>
6. Does vitamin D play a role in autoimmune endocrine disorders? A proof of concept / B. Altieri [et al.] // *Rev. Endocr. Metab. Disord.* – 2017. – Vol. 18, N 3. – P. 335–346. <https://doi.org/10.1007/s11154-016-9405-9>
7. Association of vitamin D intake and serum levels with fertility: Results from the Lifestyle and Fertility Study / J. L. Fung [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2017. – Vol. 108, N 2. – P. 302–311. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.05.037>
8. Differential regulation of vitamin D receptor and its ligand in human monocyte-derived dendritic cells / M. Hewison [et al.] // *J. Immunol.* – 2003. – Vol. 170, N 11. – P. 5382–5390. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.170.11.5382>
9. Ginde, A. Association between serum 25-hydroxyvitamin D level and upper respiratory tract infection in the Third National Health and Nutrition Examination Survey / A. A. Ginde, J. M. Mansbach, C. A. Camargo (Jr.) // *Arch. Int. Med.* – 2009. – Vol. 169, N 4. – P. 384–390. <https://doi.org/10.1001/archinternmed.2008.560>
10. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response / P. T. Liu [et al.] // *Science.* – 2006. – Vol. 311, N 5768. – P. 1770–1773. <https://doi.org/10.1126/science.1123933>
11. Vitamin D-directed rheostatic regulation of monocyte antibacterial responses / J. S. Adams [et al.] // *J. Immunol.* – 2009. – Vol. 82, N 7. – P. 4289–4295. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0803736>
12. Agier, J. Cathelicidin impact on inflammatory cells / J. Agier, M. Efenberger, E. Brzezińska-Błaszczyk // *Cent. Eur. J. Immunol.* – 2015. – Vol. 40, N 2. – P. 225–235. <https://doi.org/10.5114/ceji.2015.51359>
13. Antiviral activity and increased host defense against influenza infection elicited by the human cathelicidin LL-37 / P. G. Barlow [et al.] // *PLoS ONE*. – 2011. – Vol. 6, N 10. – P. e25333. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025333>
14. Vitamin D and 1,25(OH)₂D regulation of T cells / M. T. Cantorna [et al.] // *Nutrients.* – 2015. – Vol. 7, N 4. – P. 3011–3021. <https://doi.org/10.3390/nu7043011>
15. Acute respiratory tract infection and 25-hydroxyvitamin D concentration: a systematic review and meta-analysis / H. Pham [et al.] // *Int. J. Environ. Res. Publ. Health.* – 2019. – Vol. 16, N 17. – Art. 3020. <https://doi.org/10.3390/ijerph16173020>
16. Preventive effects of vitamin D on seasonal influenza in infants: a multicenter, randomized, open, controlled clinical trial / J. Zhou [et al.] // *Pediatr. Infect. Dis. J.* – 2018. – Vol. 37, N 8. – P. 749–754. <https://doi.org/10.1097/INF.0000000000001890>
17. Effects of vitamin D supplements on influenza A illness during the 2009 H1N1 pandemic: A randomized controlled trial / M. Urashima [et al.] // *Food Funct.* – 2014. – Vol. 5, N 9. – P. 2365–2370. <https://doi.org/10.1039/c4fo00371c>
18. High-dose monthly vitamin D for prevention of acute respiratory infection in older longterm care residents: a randomized clinical trial / A. A. Ginde [et al.] // *J. Am. Geriatrics Soc.* – 2017. – Vol. 65, N 3. – P. 496–503. <https://doi.org/10.1111/jgs.14679>
19. Putative roles of vitamin D in modulating immune response and immunopathology associated with COVID-19 / R. Kumar [et al.] // *Virus Res.* – 2021. – Vol. 292. – Art. 198235. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2020.198235>
20. Pre-infection 25-hydroxyvitamin D₃ levels and association with severity of COVID-19 illness / A. A. Dror [et al.] // *PLoS ONE*. – 2022. – Vol. 17, N 2. – P. e0263069. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0263069>
21. Bikle, D. D. Vitamin D regulation of immune function during COVID-19 / D. D. Bikle // *Rev. Endocr. Metab. Disord.* – 2022. – Vol. 23, N 2. – P. 279–285. <https://doi.org/10.1007/s11154-021-09707-4>
22. Serum Vitamin D levels are associated with increased COVID-19 severity and mortality independent of whole-body and visceral adiposity / P. E. Vanegas-Cedillo [et al.] // *Front Nutr.* – 2022. – Vol. 26, N 9. – Art. 813485. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.813485>
23. Mechanisms in endocrinology: vitamin D and COVID-19 / J. P. Bilezikian [et al.] // *Eur. J. Endocrinol.* – 2020. – Vol. 183, N 5. – P. R133–R147. <https://doi.org/10.1530/EJE-20-0665>

24. Vitamin D treatment sequence is critical for transcriptome modulation of immune challenged primary human cells / H. R. Malmberg [et al.] // *Front Immunol.* – 2021. – Vol. 12. – Art. 754056. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.754056>
25. Первое российское многоцентровое неинтервенционное регистровое исследование по изучению частоты дефицита и недостаточности витамина D в Российской Федерации у взрослых / Л. А. Суплотова [и др.] // *Терапевт. архив.* – 2021. – № 10. – С. 1209–1216.
26. Распространенность дефицита витамина D в Северо-Западном регионе РФ среди жителей г. Санкт-Петербурга и г. Петрозаводска / Т. Л. Каронова [и др.] // *Остеопороз и остеопатии.* – 2013. – Т. 16, № 3. – С. 3–7.
27. Гиповитаминоз D у взрослых – актуальная проблема в Республике Беларусь в условиях пандемии COVID-19 / Е. В. Руденко [и др.] // *Рецепт.* – 2022. – Т. 25, № 1. – С. 20–30.
28. Инфицированность SARS-CoV-2 в зависимости от уровня обеспеченности витамином D / Т. Л. Каронова [и др.] // *Проблемы эндокринологии.* – 2021. – Т. 67, № 5. – С. 20–28.
29. SARS-CoV-2 positivity rates associated with circulating 25-hydroxyvitamin D levels / H. W. Kaufman [et al.] // *PLoS ONE.* – 2020. – Vol. 15, N 9. – P. e0239252. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239252>
30. Vitamin D deficiency as a predictor of poor prognosis in patients with acute respiratory failure due to COVID-19 / G. E. Carpagnano [et al.] // *J. Endocrinol. Invest.* – 2021. – Vol. 44, N 4. – P. 765–771. <https://doi.org/10.1007/s40618-020-01370-x>
31. Interaction between age and vitamin D deficiency in severe COVID-19 infection / F. Macaya [et al.] // *Nutricion Hospitalaria.* – 2020. – Vol. 37, N 5. – P. 1039–1042. <https://doi.org/10.20960/nh.03193>
32. Does serum vitamin D level affect COVID-19 infection and its severity? A case-control study / K. Ye [et al.] // *J. Am. Coll. Nutr.* – 2021. – Vol. 40, N 8. – P. 724–731. <https://doi.org/10.1080/07315724.2020.1826005>
33. Vitamin D status and immune response in hospitalized patients with moderate and severe COVID-19 / Т. Л. Каронова [et al.] // *Pharmaceuticals (Basel).* – 2022. – Vol. 15, N 3. – Art. 305. <https://doi.org/10.3390/ph15030305>
34. Каронова, Т. Л. Уровень 25(OH)D в сыворотке крови у больных COVID-19 / Т. Л. Каронова, А. Т. Андреева, М. А. Вашукова // *Журн. инфектологии.* – 2020. – Т. 12, № 3. – С. 21–27.
35. Low 25(OH)D level is associated with severe course and poor prognosis in COVID-19 / Т. Л. Каронова [et al.] // *Nutrients.* – 2021. – Vol. 13, N 9. – Art. 3021. <https://doi.org/10.3390/nu13093021>
36. Vitamin D treatment is associated with reduced risk of mortality in patients with COVID-19: a cross-sectional multi-centre observational study / S. F. Ling [et al.] // *Nutrients.* – 2020. – Vol. 12, N 12. – P. 3799. <https://doi.org/10.3390/nu12123799>
37. Vitamin D supplementation and COVID-19 risk: a population-based, cohort study / J. Oristrell [et al.] // *J. Endocrinol. Invest.* – 2022. – Vol. 45, N 1. – P. 167–179. <https://doi.org/10.1007/s40618-021-01639-9>
38. Changes in the immune response against SARS-CoV-2 in individuals with severe COVID-19 treated with high dose of vitamin D // M. Torres [et al.] // *Biomed. Pharmacother.* – 2022. – Vol. 14, N 150. – Art. 112965. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112965>
39. Rapid and effective vitamin D supplementation may present better clinical outcomes in COVID-19 (SARS-CoV-2) patients by altering serum INOS1, IL1B, IFNg, Cathelicidin-LL37, and ICAM1 // M. S. Gonen [et al.] // *Nutrients.* – 2021. – Vol. 13, N 11. – Art. 4047. <https://doi.org/10.3390/nu13114047>
40. Calcifediol treatment and hospital mortality due to COVID-19: a cohort study // J. F. Alcalá-Díaz [et al.] // *Nutrients.* – 2021. – Vol. 13, N 6. – Art. 1760. <https://doi.org/10.3390/nu13061760>
41. ClinicalTrials.gov [Electronic resource]. – Mode of access: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/home/>. – Date of access: 30.04.2022.

References

1. *National Library of Medicine.* Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=covid-19%3B+vitamin+D&filter=years.2020-2021&timeline=expanded&size=100/> (accessed 30.04.2022)
2. Gaksch M., Jorde R., Grimnes G., Joakimsen R., Schirmer H., Wilsgaard T. [et al.]. Vitamin D and mortality: Individual participant data meta-analysis of standardized 25 hydroxyvitamin D in 26916 individuals from a European consortium. *PLoS ONE*, 2017, vol. 12, no. 2, p. e017079. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170791>
3. Tagliabue E., Raimondi S., Gandini S. Vitamin D, cancer risk, and mortality. *Advances in Food and Nutrition Research*, 2015, vol. 75, pp. 1–52. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2015.06.003>
4. Al Mheid I., Quyyumi A. A. Vitamin D and cardiovascular disease: Controversy unresolved. *Journal of the American College of Cardiology*, 2017, vol. 70, no. 1, pp. 89–100. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2017.05.031>
5. Berridge M. J. Vitamin D deficiency and diabetes. *Biochemical Journal*, 2017, vol. 474, no. 8, pp. 1321–1332. <https://doi.org/10.1042/bcj20170042>
6. Altieri B., Muscogiuri G., Barrea L., Mathieu C., Vallone C. V., Mascitelli L. [et al.]. Does vitamin D play a role in autoimmune endocrine disorders? A proof of concept. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 2017, vol. 18, no. 3, pp. 335–346. <https://doi.org/10.1007/s11154-016-9405-9>
7. Fung J. L., Hartman T. J., Schleicher R. L., Goldman M. B. Association of vitamin D intake and serum levels with fertility: Results from the Lifestyle and Fertility Study. *Fertility and Sterility*, 2017, vol. 108, no. 2, pp. 302–311. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.05.037>
8. Hewison M., Freeman L., Hughes S., Evans K. N., Bland R., Eliopoulos A. G., Kilby M. D., Moss P. A. H., Chakraverty R. Differential regulation of vitamin D receptor and its ligand in human monocyte-derived dendritic cells. *Journal of Immunology*, 2003, vol. 170, no. 11, pp. 5382–5390. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.170.11.5382>

9. Ginde A. A., Mansbach J. M., Camargo C. A. (Jr.) Association between serum 25-hydroxyvitamin D level and upper respiratory tract infection in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Archives of Internal Medicine*, 2009, vol. 169, no. 4, pp. 384–390. <https://doi.org/10.1001/archinternmed.2008.560>
10. Liu P. T., Stenger S., Li H., Wenzel L., Tan B. H., Krutzik S. R. [et al.]. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science*, 2006, vol. 311, no. 5768, pp. 1770–1773. <https://doi.org/10.1126/science.1123933>
11. Adams J. S., Ren S., Liu P. T., Chun R. F., Lagishetty V., Gombart A. F., Borregaard N., Modlin R. L., Hewison M. Vitamin D-directed rheostatic regulation of monocyte antibacterial responses. *Journal of Immunology*, 2009, vol. 82, no. 7, pp. 4289–4295. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0803736>
12. Agier J., Efenberger M., Brzezińska-Błaszczyk E. Cathelicidin impact on inflammatory cells. *Central European Journal of Immunology*, 2015, vol. 40, no. 2, pp. 225–235. <https://doi.org/10.5114/ceji.2015.51359>
13. Barlow P. G., Svoboda P., Mackellar A., Nash A. A., York I. A., Pohl J., Davidson D. J., Donis R. O. Antiviral activity and increased host defense against influenza infection elicited by the human cathelicidin LL-37. *PLoS ONE*, 2011, vol. 6, no. 10, p. e25333. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025333>
14. Cantorna M. T., Snyder L., Lin Y. D., Yang L. Vitamin D and 1,25(OH)₂D regulation of T cells. *Nutrients*, 2015, vol. 7, no. 4, pp. 3011–3021. <https://doi.org/10.3390/nu7043011>
15. Pham H., Rahman A., Majidi A., Waterhouse M., Neale R. E. Acute respiratory tract infection and 25-hydroxyvitamin D concentration: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2019, vol. 16, no. 17, art. 3020. <https://doi.org/10.3390/ijerph16173020>
16. Zhou J., Du J., Huang L., Wang Y., Shi Y., Lin H. Preventive effects of vitamin D on seasonal influenza in infants: a multicenter, randomized, open, controlled clinical trial. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 2018, vol. 37, no. 8, pp. 749–754. <https://doi.org/10.1097/INF.0000000000001890>
17. Urashima M., Mezawa H., Noya M., Camargo C. A. Jr. Effects of vitamin D supplements on influenza A illness during the 2009 H1N1 pandemic: A randomized controlled trial. *Food and Function Journal*, 2014, vol. 5, no. 9, pp. 2365–2370. <https://doi.org/10.1039/c4fo00371c>
18. Ginde A. A., Blatchford P., Breese K., Zarrabi L., Linnebur S. A., Wallace J. I., Schwartz R. S. High-dose monthly vitamin D for prevention of acute respiratory infection in older longterm care residents: a randomized clinical trial. *Journal of the American Geriatrics Society*, 2017, vol. 65, no. 3, pp. 496–503. <https://doi.org/10.1111/jgs.14679>
19. Kumar R., Rathi H., Haq A., Wimalawansa S. J., Sharma A. Putative roles of vitamin D in modulating immune response and immunopathology associated with COVID-19. *Virus Research*, 2021, vol. 292, art. 198235. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2020.198235>
20. Dror A. A., Morozov N., Daoud A., Namir Y., Yakir O., Shachar Y. [et al.]. Pre-infection 25-hydroxyvitamin D3 levels and association with severity of COVID-19 illness. *PLoS ONE*, 2022, vol. 17, no. 2, p. e0263069. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0263069>
21. Bikle D. D. Vitamin D regulation of immune function during COVID-19. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 2022, vol. 23, no. 2, pp. 279–285. <https://doi.org/10.1007/s11154-021-09707-4>
22. Vanegas-Cedillo P. E., Bello-Chavolla O. Y., Ramírez-Pedraza N., Rodríguez Encinas B., Pérez Carrión C. I., Jasso-Ávila M. I. [et al.]. Serum vitamin D levels are associated with increased COVID-19 severity and mortality independent of whole-body and visceral adiposity. *Frontiers in Nutrition*, 2022, vol. 9, art. 813485. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.813485>
23. Bilezikian J. P., Bikle D., Hewison M., Lazaretti-Castro M., Formenti A. M., Gupta A. [et al.]. Mechanisms in endocrinology: vitamin D and COVID-19. *European Journal of Endocrinology*, 2020, vol. 183, no. 5, pp. R133–R147. <https://doi.org/10.1530/EJE-20-0665>
24. Malmberg H. R., Hanel A., Taipale M., Heikkinen S., Carlberg C. Vitamin D treatment sequence is critical for transcriptome modulation of immune challenged primary human cells. *Frontiers in Immunology*, 2021, vol. 12, art. 754056. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.754056>
25. Suplotova L. A., Avdeeva V. A., Pigarova E. A., Rozhinskaya L. Ya., Karonova T. L., Troshina E. A. The first Russian multicenter non-interventional registry study to study the incidence of vitamin D deficiency and insufficiency in Russian Federation. *Terapevticheskii arkhiv* [Therapeutic archive], 2021, vol. 10, pp. 1209–1216 (in Russian).
26. Karonova T. L., Grineva E. N., Nikitina I. L., Tsvetkova E. V., Todieva A. M., Belyaeva O. D. [et al.]. The prevalence of vitamin D deficiency in the Northwestern region of the Russian Federation among the residents of St. Petersburg and Petrozavodsk *Osteoporoz i osteopatii* [Osteoporosis and osteopathy], 2013, vol. 16, no. 3, pp. 3–7 (in Russian).
27. Rudenko E. V., Nazarchik I. A., Luk'yanenok D. M., Gonchar O. A., Vasyukovich S. A. Hypovitaminosis D in adults as a topical problem in the Republic of Belarus in terms of the COVID-19 pandemic. *Retsept* [Recipe], 2022, vol. 25, no. 1, pp. 20–30 (in Russian).
28. Karonova T. L., Andreeva A. T., Golovatyuk K. A., Bykova E. S., Skibo I. I., Grineva E. N., Shlyakhto E. V. SARS-CoV-2 morbidity depending on vitamin D status. *Problemy endokrinologii* [Problems of endocrinology], 2021, vol. 67, no. 5, pp. 20–28 (in Russian).
29. Kaufman H. W., Niles J. K., Kroll M. H., Bi C., Holick M. F. SARS-CoV-2 positivity rates associated with circulating 25-hydroxyvitamin D levels. *PLoS ONE*, 2020, vol. 15, no. 9, p. e0239252. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239252>
30. Carpagnano G. E., Di Lecce V., Quaranta V. N., Zito A., Buonamico E., Capozza E., Palumbo A., di Gioia G., Valerio V. N., Resta O. Vitamin D deficiency as a predictor of poor prognosis in patients with acute respiratory failure due to COVID-19. *Journal of Endocrinological Investigation*, 2021, vol. 44, no. 4, pp. 765–771. <https://doi.org/10.1007/s40618-020-01370-x>

31. Macaya F., Paeres C. E., Valls A., Fernández-Ortiz A., González Del Castillo J., Martín-Sánchez F. J., Runkle I., Herrera M. Á. R. Interaction between age and vitamin D deficiency in severe COVID-19 infection. *Nutricion Hospitalaria*, 2020, vol. 37, no. 5, pp. 1039–1042. <https://doi.org/10.20960/nh.03193>
32. Ye K., Tang F., Liao X., Shaw B. A., Deng M., Huang G. [et al.]. Does serum vitamin D level affect COVID-19 infection and its severity? A case-control study. *Journal of the American College of Nutrition*, 2021, vol. 40, no. 8, pp. 724–731. <https://doi.org/10.1080/07315724.2020.1826005>
33. Karonova T. L., Kudryavtsev I. V., Golovatyuk K. A., Aquino A. D., Kalinina O. V., Chernikova A. T. [et al.]. Vitamin D status and immune response in hospitalized patients with moderate and severe COVID-19. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2022, vol. 15, no. 3, art. 305. <https://doi.org/10.3390/ph15030305>
34. Karonova T. L., Andreeva A. T., Vashukova M. A. Serum 25(OH)D level in COVID-19 patients. *Zhurnal infektologii* [Journal of infectology], 2020, vol. 12, no. 3, pp. 21–27 (in Russian).
35. Karonova T. L., Andreeva A. T., Golovatyuk K. A., Bykova E. S., Simanenkov A. V., Vashukova M. A., Grant W. B., Shlyakhto E. V. Low 25(OH)D level is associated with severe course and poor prognosis in COVID-19. *Nutrients*, 2021, vol. 13, no. 9, art. 3021. <https://doi.org/10.3390/nu13093021>
36. Ling S. F., Broad E., Murphy R., Pappachan J. M., Pardesi-Newton S., Kong M. F. [et al.]. Vitamin D treatment is associated with reduced risk of mortality in patients with COVID-19: a cross-sectional multi-centre observational study. *Nutrients*, 2020, vol. 12, no. 12, p. 3799. <https://doi.org/10.3390/nu12123799>
37. Oristrell J., Oliva J. C., Casado E., Subirana I., Domínguez D., Toloba A., Balado A., Grau M. Vitamin D supplementation and COVID-19 risk: a population-based, cohort study. *Journal of Endocrinological Investigation*, 2022, vol. 45, no. 1, pp. 167–179. <https://doi.org/10.1007/s40618-021-01639-9>
38. Torres M., Casado G., Vigón L., Rodríguez-Mora S., Mateos E., Ramos-Martín R. [et al.]. Changes in the immune response against SARS-CoV-2 in individuals with severe COVID-19 treated with high dose of vitamin D. *Biomedicine Pharmacotherapy*, 2022, vol. 14, no. 150, art. 112965. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112965>
39. Gönen M. S., Alaylıoğlu M., Durcan E., Özdemir Y., Şahin S., Konukoğlu D. [et al.]. Rapid and effective vitamin D supplementation may present better clinical outcomes in COVID-19 (SARS-CoV-2) patients by altering serum INOS1, IL1B, IFNg, Cathelicidin-LL37, and ICAM1. *Nutrients*, 2021, vol. 13, no. 11, art. 4047. <https://doi.org/10.3390/nu13114047>
40. Alcalá-Díaz J. F., Limia-Perez L., Gomez-Huelgas R., Martín-Escalante M. D., Cortes-Rodríguez B., Zambrana-García J. L. [et al.]. Calcifediol treatment and hospital mortality due to COVID-19: a cohort study. *Nutrients*, 2021, vol. 13, no. 6, art. 1760. <https://doi.org/10.3390/nu13061760>
41. *ClinicalTrials.gov*. Available at: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/home/> (accessed 30.04.2022).

Информация об авторах

Каронова Татьяна Леонидовна – д-р мед. наук, доцент. Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова (пр. Пархоменко, 15, 194021, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация). E-mail: karonova@mail.ru. <https://doi.org/0000-0002-1547-0123>

Руденко Елена Викторовна – канд. мед. наук, доцент. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: alenska.v.ru@gmail.com. <https://doi.org/0000-0003-4281-0880>

Радаева Ольга Александровна – канд. мед. наук, доцент. Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарева (ул. Большевикская, 68, 430005, г. Саранск, Российская Федерация). E-mail: vtlbwbyf_79@mail.ru. <https://doi.org/0000-0003-1383-2474>

Черникова Алена Тимуровна – мл. науч. сотрудник. Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова (пр. Пархоменко, 15, 194021, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация). E-mail: arabicaa@gmail.com. <https://doi.org/0000-0002-4878-6909>

Головатюк Ксения Андреевна – мл. науч. сотрудник. Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова (пр. Пархоменко, 15, 194021, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация). E-mail: ksgolovatiuk@gmail.com. <https://doi.org/0000-0002-0651-7110>

Шляхто Евгений Владимирович – академик, д-р мед. наук. Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова (ул. Аккуратова, 2, 197341, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация). E-mail: shlyakhto_ev@almazovcentre.ru. <https://doi.org/0000-0003-2929-0980>

Information about the authors

Tatiana L. Karonova – D. Sc. (Med.), Associate Professor. Almazov National Medical Research Centre (15, Parkhomenko Ave., 194021, St. Petersburg, Russian Federation). E-mail: karonova@mail.ru. <https://doi.org/0000-0002-1547-0123>

Elena V. Rudenco – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Brovka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: alenska.v.ru@gmail.com. <https://doi.org/0000-0003-4281-0880>

Olga A. Radaeva – Ph. D. (Med.), Associate Professor, Ogarev Mordovia State University (68, Bol'shevistskaya Str., 430005, Saransk, Russian Federation). E-mail: vtlbwbyf_79@mail.ru. <https://doi.org/0000-0003-1383-2474>

Alena T. Chernikova – Junior Researcher. Almazov National Medical Research Centre (15, Parkhomenko Ave., 194021, St. Petersburg, Russian Federation). E-mail: arabicaa@gmail.com. <https://doi.org/0000-0002-4878-6909>

Ksenia A. Golovatyuk – Junior Researcher. Almazov National Medical Research Centre (15, Parkhomenko Ave., 194021, St. Petersburg, Russian Federation). E-mail: ksgolovatiuk@gmail.com. <https://doi.org/0000-0002-0651-7110>

Evgeny V. Shlyakhto – Academician, D. Sc. (Med.). Almazov National Medical Research Centre (2, Akkuratov Str., 197341, St. Petersburg, Russian Federation). E-mail: shlyakhto_ev@almazovcentre.ru. <https://doi.org/0000-0003-2929-0980>