

ВЕСЦІ

НАЦЫЯНАЛЬнай

АКАДЭМІі НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ МЕДЫЦЫНСКІХ НАВУК. 2025. Т. 22, № 4

ИЗВЕСТИЯ

НАЦИОНАЛЬНОЙ

АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК. 2025. Т. 22, № 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

Василий Генрихович Богдан –

Отделение медицинских наук Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

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

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 имени Н. Н. Александрова, Минск, Республика Беларусь
Н. П. Митьковская – Белорусский государственный медицинский университет, 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
Р. Р. Сидорович – Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии, Минск, Республика Беларусь
И. О. Стома – Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Республика Беларусь
А. В. Строцкий – Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
Д. В. Тапальский – Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

Редакционный совет

Эдуардас Алекнавичиус – Национальный институт рака, Вильнюс, Литовская Республика
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
Марк-Антуан Кусто – Анжерский университет, Анже, Французская Республика
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
В. П. Чехонин – Российская академия 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. 2025. Том 22, № 4
Выходит на русском, белорусском и английском языках

Редактор *В. Г. Колосовская*
Компьютерная верстка *Л. И. Кудерко*

Подписано в печать 04.11.2025. Выход в свет 26.11.2025. Формат 60×84¹/₈. Бумага офсетная.
Печать цифровая. Усл. печ. л. 10,23. Уч.-изд. л. 11,3. Тираж 38 экз. Заказ 218.
Цена номера: индивидуальная подписка – 15,16 руб., ведомственная подписка – 34,53 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, 2025

PROCEEDINGS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

MEDICAL SERIES, 2025, vol. 22, 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

Vasiliy G. Bogdan –

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

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 (*Leading 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 for Pulmonology and Tuberculosis, Minsk,
Republic of Belarus

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

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

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

Natalia P. Mitkovskaya – Belarusian State Medical University, 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

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

Igor O. Stoma – Gomel State Medical University, Gomel, Republic of Belarus

Alexandr V. Strotsky – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Dmitry V. Tapalsky – Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

Frantisek I. Vismont – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Editorial Council

Eduardas Aleknavicius – National Cancer Institute, Vilnius, Republic of Lithuania

Vladimir P. Chekhonin – Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

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

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

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, 2025, vol. 22, no. 4.

Printed in Russian, Belarusian and English languages

Editor *V. G. Kolosovskaya*

Computer imposition *L. I. Kudzerko*

It is sent of the press 04.11.2025. Appearance 26.11.2025. Format 60×84¹/₈. Offset paper. The press digital.

Printed pages 10.23. Publisher's signatures 11.3. Circulation 38 copies. Order 218.

Number price: individual subscription – 15.16 byn., departmental subscription – 34.53 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. Scorina Str., Minsk, 220084, Republic of Belarus.

© RUE "Publishing House "Belaruskaya Navuka",
Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series, 2025

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

ЗМЕСТ

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

Севрукевич В. В., Висмонт Ф. И., Мрочек А. Г. Кардиопротекторный эффект дистантного ишемического кондиционирования при ишемии различной длительности в эксперименте	271
Коротков С. В., Юркина Е. Г., Сыманович А. А., Назарова Е. А., Штурич И. П., Дзядзько А. М., Кривенко С. И., Руммо О. О. Минимизация иммуносупрессивной терапии с использованием мезенхимальных стволовых клеток при трансплантации печени у пациентов с почечным повреждением	281
Рубникович С. П., Сирак С. В., Гатило И. А., Денисова Ю. Л., Сирак А. С., Ленев В. Н. Клиническое значение строения передней стенки верхнечелюстного синуса для планирования операции субантральной аугментации латеральным способом	293
Митьковская Н. П., Григоренко Е. А., Супоненко З. С., Кузьмич С. В., Третьяк Е. С., Кудинова Д. В., Васильева Л. А., Корнева Л. О., Валентюкевич А. В., Федотов П. А. Роль положительной культуры донорской крови в развитии инфекционных осложнений у реципиентов сердечного трансплантата в раннем послеоперационном периоде.....	304
Смирнов С. Ю., Медведь А. В., Пивоварчик С. Н., Вахомчик Т. Г., Короткевич П. Е., Субоч Е. И., Портянко А. С. Разработка метода детекции цоДНК у пациентов с немелкоклеточным раком легкого с использованием маркера метилирования <i>RASSF1</i>	314
Постников М. А., Рубникович С. П., Батталова Ю. Н., Денисова Ю. Л., Волова Л. Т., Осина Н. К., Свечникова М. В., Постникова Е. М. Ингибирование противовоспалительных цитокинов препаратом «Альвостаз» в модели <i>in vitro</i>	324
Волкова Н. В., Аксёнова Е. А., Солнцева А. В., Жарич В. М., Александрович В. В., Синявская М. Г. Ассоциация полиморфизмов генов <i>MICA</i> и <i>CTLA-4</i> с риском аутоиммунных заболеваний щитовидной железы у детей с сахарным диабетом 1-го типа	332
Поклонская Н. В., Амвросьева Т. В., Колтунова Ю. Б., Бельская И. В., Аринович А. С., Кишкурно Е. П., Казинец О. Н. Особенности циркуляции аденовирусов на территории Республики Беларусь и их доминирующие генотипы	344

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

CONTENTS

CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE

Sevrukevitch V. V., Vismont F. I., Mrochek A. G. Cardioprotective effect of remote ischemic conditioning during ischemia of different duration in an experiment.....	271
Korotkov S. V., Yurkina E. G., Symanovich A. A., Nazarova E. A., Shturich I. P., Dzyadz'ko A. M., Krivenko S. I., Rummo O. O. Minimization of immunosuppressive therapy using mesenchymal stem cells in liver transplantation in patients with renal injury	281
Rubnikovich S. P., Sirak S. V., Gatilo I. A., Denisova Yu. L., Sirak A. S., Lenev V. N. Clinical significance of the structure of the anterior wall of the maxillary sinus for planning the subantral augmentation operation by the lateral method	293
Mitkovskaya N. P., Grigorenko E. A., Suponenka Z. S., Kuzmich S. V., Tratsyak E. S., Kudzinava D. V., Vasilyeva L. A., Korneva L. O., Valentyukevich A. V., Fedotov P. A. Role of positive donor blood culture in the development of infectious complications in heart transplant recipients during the early postoperative period.....	304
Smirnou S. Y., Miadzvedz A. V., Pivavarchyk S. N., Vakhomchyk T. G., Karatkevich P. E., Subach H. I., Portyanko A. S. Development of a method for detecting ctDNA in patients with non-small cell lung cancer using the <i>RASSF1</i> methylation marker	314
Postnikov M. A., Rubnikovich S. P., Battalova Yu. N., Denisova Yu. L., Volova L. T., Ossina N. K., Svechnikova M. V., Postnikova E. M. Inhibition of anti-inflammatory cytokines by the drug "Alvostaz" in the <i>in vitro</i> system	324
Volkova N. V., Aksenova E. A., Solntseva A. V., Zharich V. M., Aleksandrovich V. V., Siniauskaya M. G. Association of <i>MICA</i> and <i>CTLA-4</i> gene polymorphisms with the risk of autoimmune thyroid diseases in children with type 1 diabetes.....	332
Paklonskaya N. V., Amvrosieva T. V., Kaltunova Yu. B., Belskaya I. V., Arinovich A. S., Kishkurno E. P., Kazinetz O. N. Features of adenovirus circulation in the territory of the Republic of Belarus and their dominant genotypes.....	344

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

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE

УДК 616.12-07:612.172.1
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-4-271-280>

Поступила в редакцию 30.04.2025
Received 30.04.2025

В. В. Севрукевич, Ф. И. Висмонт, А. Г. Мрочек

*Белорусский государственный медицинский университет,
Минск, Республика Беларусь*

КАРДИОПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ ДИСТАНТНОГО ИШЕМИЧЕСКОГО КОНДИЦИОНИРОВАНИЯ ПРИ ИШЕМИИ РАЗЛИЧНОЙ ДЛИТЕЛЬНОСТИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Аннотация. Изучена кардиопротекторная эффективность дистантного ишемического перекондиционирования (ДИПерК), дистантного ишемического посткондиционирования (ДИПостК 10'), а также их комбинаций в условиях ишемии миокарда различной продолжительности. Ишемия/реперфузия миокарда воспроизводилась путем 30-минутной окклюзии левой коронарной артерии с последующим периодом 120-минутной реперфузии либо путем 45-минутной окклюзии левой коронарной артерии с последующим периодом 120-минутной реперфузии. Все приведенные в настоящем исследовании алгоритмы дистантного ишемического кондиционирования в условиях ишемии длительностью 30 и 45 мин с последующей 120-минутной реперфузией вызывали выраженный кардиопротекторный эффект. Продemonстрировано, что комбинированное применение ДИПерК с ДИПостК 10' в условиях ишемии длительностью 30 и 45 мин с последующей 120-минутной реперфузией оказывает сопоставимый кардиопротекторный эффект в сравнении с применением каждого из этих алгоритмов в отдельности. Ишемия длительностью 30 мин является более предпочтительной для разработки новых эффективных способов кардиопротекции.

Ключевые слова: кардиопротекция, комбинированное применение, дистантное ишемическое перекондиционирование, дистантное ишемическое посткондиционирование 10', ишемия/реперфузия, ишемическое/реперфузионное повреждение миокарда, ишемия различной длительности

Для цитирования: Севрукевич, В. В. Кардиопротекторный эффект дистантного ишемического кондиционирования при ишемии различной длительности в эксперименте / В. В. Севрукевич, Ф. И. Висмонт, А. Г. Мрочек // Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2025. – Т. 22, № 4. – С. 271–280. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-4-271-280>

Valery V. Sevruevitch, Frantishek I. Vismont, Alexander G. Mrochek

Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

CARDIOPROTECTIVE EFFECT OF REMOTE ISCHEMIC CONDITIONING DURING ISCHEMIA OF DIFFERENT DURATION IN AN EXPERIMENT

Abstract. The cardioprotective efficacy of remote ischemic preconditioning (RIPerC), remote ischemic postconditioning (RIPostC 10'), as well as their combinations, was studied under conditions of myocardial ischemia of varying durations. Myocardial ischemia/reperfusion was induced by 30-minute occlusion of the left coronary artery, followed by a 120-minute reperfusion period, or by a 45-minute occlusion of the left coronary artery, followed by a 120-minute reperfusion period. All remote ischemic conditioning protocols presented in this study demonstrated a pronounced cardioprotective effect under conditions of both 30-minute and 45-minute ischemia followed by 120 minutes of reperfusion. It was shown that the combined application of RIPerC and RIPostC 10' under conditions of 30- and 45-minute ischemia followed by 120-minute reperfusion provides a cardioprotective effect comparable to that of each algorithm applied separately. Thirty-minute ischemia appears to be more preferable for the development of new effective cardioprotective strategies.

Keywords: cardioprotection, combined application, remote ischemic preconditioning, remote ischemic postconditioning 10', ischemia/reperfusion, myocardial ischemia/reperfusion injury, ischemia of varying duration

For citation: Sevruevitch V. V., Vismont F. I., Mrochek A. G. Cardioprotective effect of remote ischemic conditioning during ischemia of different duration in an experiment. *Vesti Natsyonal'noi akademii nauk Belarusi. Seriya medytynskikh nauk* = *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2025, vol. 22, no. 4, pp. 271–280 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-4-271-280>

Введение. Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) остаются ведущей причиной смертности в Республике Беларусь. Ишемическая болезнь сердца (ИБС) занимает центральное место среди ССЗ [1]. Одной из наиболее опасных форм ИБС, характеризующейся развитием необратимых морфофункциональных изменений в миокарде, является острый инфаркт миокарда (ОИМ).

Опасность ОИМ заключается прежде всего в высокой вероятности летального исхода при отсутствии своевременного лечения либо при хронической сердечной недостаточности.

Своевременность выполнения реперфузионных вмешательств, направленных на раннее восстановление кровотока в окклюзированном сосуде с помощью тромболитика или выполнения первичной чрескожной коронарной ангиопластики (пЧКА), играет ключевую роль в лечении пациентов с ОИМ. Эффективность выполнения реперфузионных вмешательств зависит прежде всего от длительности временного интервала от начала появления первых симптомов ОИМ до момента восстановления коронарного кровотока у пациента. Следовательно, различная длительность данного временного интервала напрямую влияет на масштабы повреждения миокарда и исходы лечения пациентов, перенесших ОИМ.

Некроз рассматривается как основная причина гибели кардиомиоцитов при коронарной окклюзии длительностью более 20–40 мин и характеризуется повреждением митохондрий и сарколеммы с последующей воспалительной реакцией [2].

Однако, несмотря на несомненный позитивный эффект, реперфузия сама по себе оказывает и повреждающее действие на миокард. Повторное поступление кислорода в ранее ишемизированные ткани сопровождается увеличением образования активных форм кислорода в митохондриях, что приводит к дополнительному повреждению кардиомиоцитов [3].

Литературные данные последних десятилетий свидетельствуют о применении большого количества кардиопротекторных воздействий, направленных на уменьшение повреждения миокарда, вызванного ишемией и реперфузией. К таким воздействиям можно отнести гипотермию организма, стимуляцию блуждающего нерва, дистантное и локальное ишемическое кондиционирование, использование фармакологических препаратов [4–8]. Однако, несмотря на наличие множества способов воздействия, немногие из них рассматриваются как эффективные для применения в клинической практике у пациентов с ОИМ.

Одним из наиболее перспективных воздействий, направленных на снижение повреждения, вызванного ишемией и реперфузией, является дистантное ишемическое кондиционирование (ДИК). ДИК способствует кардиопротекции при помощи кратковременных эпизодов в отдаленных органах или тканях ишемии и реперфузии, предшествующих длительной ишемии миокарда (например, кратковременное пережатие *a. femoralis*) [6, 9, 10].

Соответственно, ДИК, в зависимости от времени воздействия на миокард относительно длительной ишемии, может производиться до ишемии (прекондиционирование), во время ишемии (перкондиционирование) и после ишемии (посткондиционирование). В исследовании Basalay с соавт. (2012) были установлены различия механизмов реализации кардиопротекторного эффекта между этими алгоритмами кондиционирования [11].

Кардиопротекторный эффект ДИК был показан на модели ишемии/реперфузии как в экспериментальных, так и в ряде клинических исследований [11, 12]. Однако в ряде клинических исследований кардиопротекторный эффект ДИК был либо минимальный, либо отсутствовал вовсе [13, 14].

Кроме того, парадоксальным является тот факт, что кардиопротекторный эффект различных воздействий в условиях ишемии разной длительности изучался лишь в единичных исследованиях [2].

В связи с вышеперечисленным предполагаем, что для достижения максимального кардиопротекторного эффекта в условиях ишемии различной продолжительности необходимо задействовать различные алгоритмы дистантного ишемического кондиционирования.

Цель настоящего исследования – изучение кардиопротекторной эффективности дистантного ишемического перкондиционирования, дистантного ишемического посткондиционирования, а также их комбинаций в условиях ишемии миокарда различной продолжительности.

Материалы и методы исследования. Исследование было выполнено на 72 белых нелинейных крысах-самцах массой 300 ± 20 г. Животные содержались на стандартном рационе вивария

и получали полноценный корм и воду без ограничений. Эксперименты выполнены в соответствии с этическими нормами обращения с животными, а также с требованиями Директивы Европейского этического комитета 86/609/ЕЕС от 24.11.1986 г., правилами «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и других научных целях» от 18.03.1986 г. и ТКП 125–2008 «Надлежащая лабораторная практика», утвержденными постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь (№ 56 от 28.03.2008 г.).

Для анестезии применяли тиопентал натрия (ОАО «Синтез», Россия) в дозе 50 мг/кг, который вводили внутривенно, с последующей внутривенной инфузией поддерживающей дозы 10 мг/кг/ч. Животных переводили на искусственное дыхание атмосферным воздухом через трахеостому при помощи аппарата ИВЛ (Harvard Rodent Ventilator 683). При этом дыхательный объем поддерживали на уровне 8–10 мл/кг массы тела, частоту дыхания – на уровне 56–60 вдохов в минуту. Температуру тела измеряли эндоректальным датчиком и поддерживали на уровне $37,0 \pm 0,5$ °C при помощи электрогрелки (Harvard Apparatus, США). В ходе экспериментов осуществляли непрерывную инвазивную регистрацию артериального давления (АД) в правой общей сонной артерии, а также ЭКГ во II стандартном отведении.

С целью модуляции острой коронарной недостаточности производили вскрытие грудной клетки наркотизированного животного в четвертом межреберном промежутке слева. После 15-минутной стабилизации гемодинамики крысам экспериментальных групп выполняли 30- либо 45-минутную окклюзию передней нисходящей ветви левой коронарной артерии (ЛКА) путем прошивания и пережатия стенки миокарда, расположенной под ушком левого предсердия 6–0 моноволоконистой полипропиленовой нитью. Успешная окклюзия коронарной артерии подтверждалась подъемом сегмента ST и немедленным падением АД на 15–30 мм рт. ст. Длительность реперфузии во всех группах составляла 120 мин.

Животные контрольных групп в экспериментальном протоколе 1 подвергались только 30-минутной ишемии и 120-минутной реперфузии миокарда (группа Контроль 30', $n = 8$) (рис. 1) и 45-минутной ишемии и 120-минутной реперфузии миокарда в экспериментальном протоколе 2 (группа Контроль 45', $n = 8$) (рис. 2).

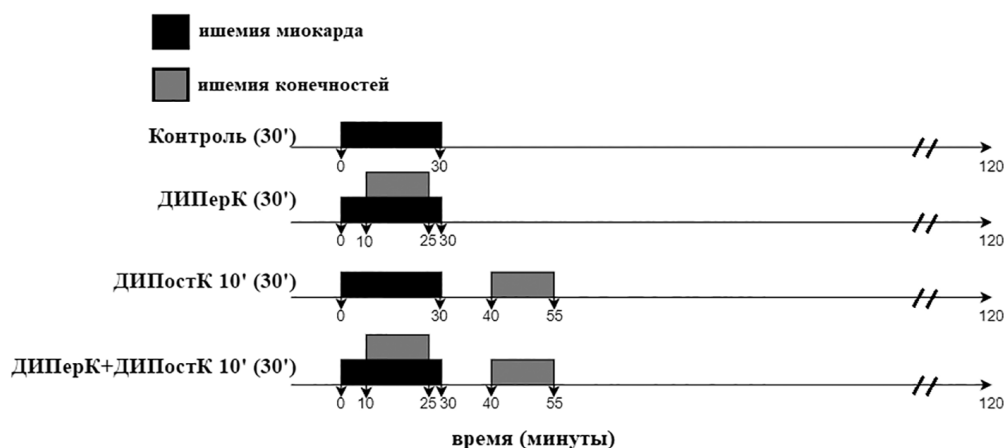


Рис. 1. Экспериментальный протокол 1.

ДИПерК (30') – дистантное ишемическое перекондиционирование, осуществляемое на 10-й минуте 30-минутной ишемии; ДИПостК 10' (30') – дистантное ишемическое посткондиционирование, осуществляемое на 10-й минуте 120-минутной реперфузии; ДИПерК + ДИПостК 10' (30') – комбинация дистантного ишемического перекондиционирования и дистантного ишемического посткондиционирования, осуществляемая путем 15-минутной окклюзии обеих бедренных артерий, осуществляемой на 10-й минуте 30-минутной ишемии с последующей 15-минутной окклюзией обеих бедренных артерий, осуществляемой на 10-й минуте 120-минутной реперфузии

Fig. 1. Experimental protocol 1.

DIPerC (30') is a remote ischemic preconditioning performed at 10 minutes of 30-minute ischemia; DIPostC 10' (30') is a remote ischemic postconditioning performed at 10 minutes of 120-minute reperfusion; DIPerC + DIPostC 10' (30') is a combination of remote ischemic preconditioning and remote ischemic postconditioning performed by 15-minute occlusion of both femoral arteries performed at 10 minutes of 30-minute ischemia followed by 15-minute occlusion of both femoral arteries performed at 10 minutes of 120-minute reperfusion

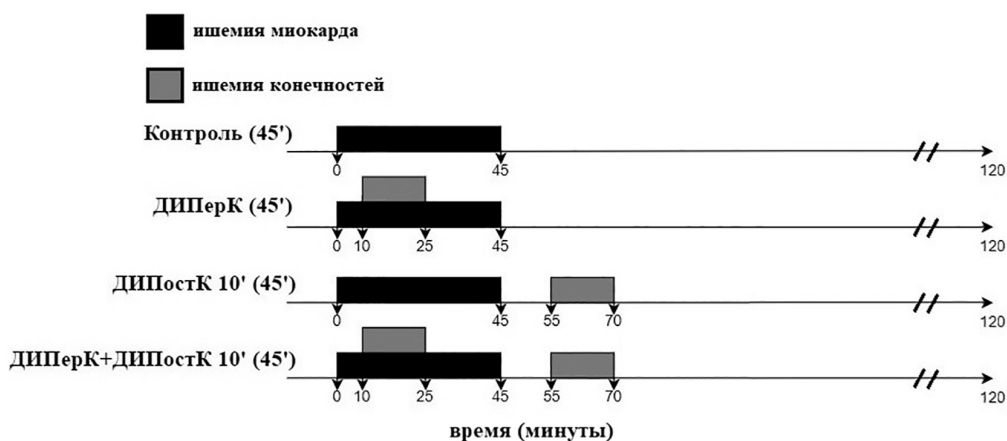


Рис. 2. Экспериментальный протокол 2.

ДИПерК (45') – дистантное ишемическое перекондиционирование, осуществляемое на 10-й минуте 45-минутной ишемии; ДИПостК 10' (45') – дистантное ишемическое посткондиционирование, осуществляемое на 10-й минуте 120-минутной реперфузии; ДИПерК + ДИПостК 10' (45') – комбинация ДИПерК + ДИПостК, осуществляемая путем 15-минутной окклюзии обеих бедренных артерий, осуществляемой на 10-й минуте 45-минутной ишемии с последующей 15-минутной окклюзией обеих бедренных артерий, осуществляемой на 10-й минуте 120-минутной реперфузии

Fig. 2. Experimental protocol 2.

DIPerC (45') is a remote ischemic preconditioning performed at 10 minutes of 45-minute ischemia; DIPostC 10' (45') is a remote ischemic postconditioning performed at 10 minutes of 120-minute reperfusion; DIPerC + DIPostC 10' (45') is a combination of remote ischemic preconditioning and remote ischemic postconditioning performed by 15-minute occlusion of both femoral arteries performed at 10 minutes of 45-minute ischemia followed by 15-minute occlusion of both femoral arteries performed at 10 minutes of 120-minute reperfusion

В опытных группах ДИПерК воспроизводили путем 15-минутной окклюзии обеих бедренных артерий, на 10-й минуте 30-минутной ишемии (группа ДИПерК (30'), $n = 10$) (см. рис. 1), либо на 10-й минуте 45-минутной ишемии (группа ДИПерК (45'), $n = 10$) (рис. 2).

В опытных группах ДИПостК воспроизводили путем 15-минутной окклюзии обеих бедренных артерий на 10-й минуте 120-минутной реперфузии после 30-минутной ишемии (группа ДИПостК 10' (30'), $n = 10$) (см. рис. 1) либо на 10-й минуте 120-минутной реперфузии после 45-минутной ишемии (группа ДИПостК 10' (45'), $n = 10$) (рис. 2).

В опытных группах комбинацию ДИПерК и ДИПостК воспроизводили путем 15-минутной окклюзии обеих бедренных артерий на 10-й минуте 30-минутной ишемии с последующей 15-минутной окклюзией обеих бедренных артерий на 10-й минуте 120-минутной реперфузии (группа ДИПерК + ДИПостК 10' (30'), $n = 8$) (см. рис. 1) либо путем 15-минутной окклюзии обеих бедренных артерий на 10-й минуте 45-минутной ишемии с последующей 15-минутной окклюзией обеих бедренных артерий на 10-й минуте 120-минутной реперфузии (группа ДИПерК + ДИПостК 10' (45'), $n = 8$) (рис. 2).

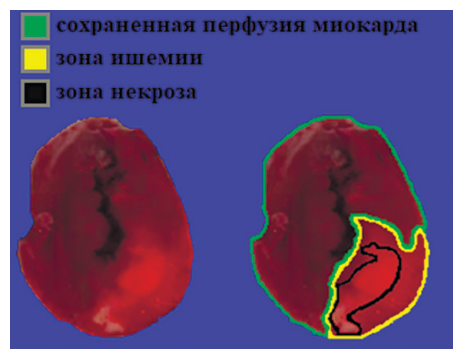
Во всех группах протокола использовали следующую модель ишемического/реперфузионного повреждения миокарда: 30-минутная окклюзия передней нисходящей ветви ЛКА с последующей 120-минутной реперфузией. ДИК воспроизводили путем 15-минутной окклюзии обеих бедренных артерий.

Во всех группах протокола использовали следующую модель ишемического/реперфузионного повреждения миокарда: 45-минутная окклюзия передней нисходящей ветви ЛКА с последующей 120-минутной реперфузией. ДИК воспроизводили путем 15-минутной окклюзии обеих бедренных артерий.

Зону риска выявляли с помощью 5%-го раствора синьки Эванса (Sigma, США), введенного в объеме 0,5 мл в левую общую яремную вену. Для идентификации зоны некроза в миокарде левого желудочка крыс использовали метод, основанный на определении активности дегидрогеназ путем 24-часовой инкубации срезов миокарда в 1%-м растворе 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида.

Рис. 3. Срез миокарда левого желудочка, окрашенного синькой Эванса и 2,3,5-трифенилтетразолом хлоридом, после ишемии/реперфузии миокарда. Зеленый цвет – миокард с сохраненной перфузией, желтый цвет – зона ишемии миокарда, черный цвет – зона некроза миокарда

Fig. 3. Section of the left ventricular myocardium stained with Evans blue and 2,3,5-triphenyltetrazole chloride after myocardial ischemia/reperfusion. Green color – myocardium with preserved perfusion, yellow color – myocardial ischemia zone, black color – myocardial necrosis zone



Непрокрашивание миокарда раствором синьки Эванса свидетельствует об отсутствии кровоснабжения данной области в период ишемии. Жизнеспособный миокард окрашивается в краснокирпичный цвет 2,3,5-трифенилтетразолием хлоридом (Sigma, США), тогда как некротизированный миокард остается бледно-желтым (рис. 3).

Зону риска и зону некроза определяли с помощью компьютерной планиметрии, нормализованной по весу каждого среза, причем степень некроза (т. е. размер инфаркта) выражали в процентах от зоны риска. Размеры зоны риска и зоны некроза определяли в программе AdobePhotoshop 13.

Статистическую значимость различий полученных данных в случае их параметрического распределения оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с использованием тестов множественных сравнений Данна и Бонферрони, при этом результаты представляли в виде среднего арифметического \pm стандартная ошибка среднего ($M \pm m$). Уровень $p < 0,05$ рассматривали как статистически значимый.

Результаты и их обсуждение. Оклюзия ЛКА приводила к кратковременному снижению АД и подъему сегмента ST во II стандартном отведении ЭКГ. Приблизительно к 5-й минуте ишемии АД возвращалось к исходному уровню.

Не было различий в значениях среднего АД и частоты сердечных сокращений (ЧСС) между животными контрольной и опытных групп во время ишемии/реперфузии.

Не выявлено различий в размерах зоны риска миокарда между животными контрольной и опытных групп.

Размер очага некроза у животных, подвергшихся только воздействию 30-минутной ишемии и 120-минутной реперфузии, в группе Контроль (30') составил 41 ± 2 % (рис. 4).

ДИПерК, применяемое на 10-й минуте 30-минутной ишемии миокарда, приводило к уменьшению зоны некротического поражения миокарда. Размер очага некроза в группе ДИПерК (30') составил $21,3 \pm 2$ % ($p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой) (рис. 4).

ДИПостК, применяемое на 10-й минуте 120-минутной реперфузии, также приводило к уменьшению очага некроза в миокарде. Размер очага некроза в группе ДИПостК 10' (30') составил $23,1 \pm 2$ % ($p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой) (рис. 4).

Комбинация ДИПерК + ДИПостК, применяемая на 10-й минуте 30-минутной ишемии и на 10-й минуте 120-минутной реперфузии миокарда, также приводила к уменьшению очага некроза в миокарде, однако не способствовала уменьшению размеров некроза по сравнению с применением каждого из этих кардиопротекторных алгоритмов в отдельности. Размер очага некроза в группе

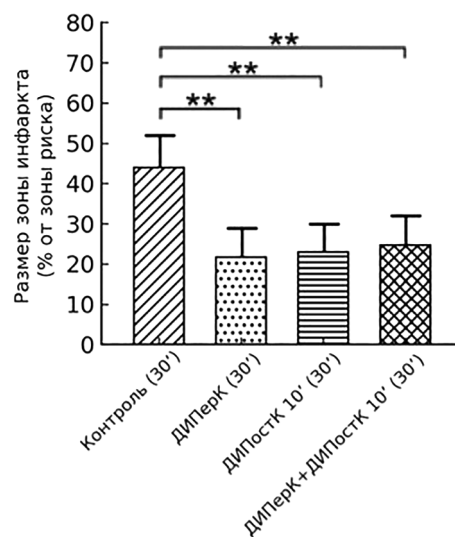


Рис. 4. Размер очага некроза в миокарде, вызванного 30-минутной ишемией и 120-минутной реперфузией.

** – различия между контрольной и опытными группами достоверны ($p < 0,01$)

Fig. 4. Size of the myocardial necrosis lesion caused by 30-minute ischemia and 120-minute reperfusion.

** – differences between the control and experimental groups are significant ($p < 0,01$)

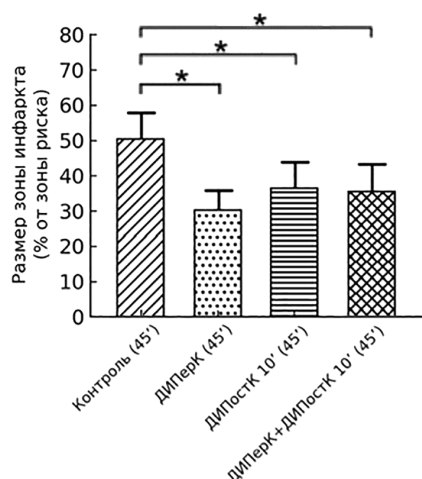


Рис. 5. Размер очага некроза в миокарде, вызванного 45-минутной ишемией и 120-минутной реперфузией.

* – различия между контрольной и опытными группами достоверны ($p < 0,05$)

Fig. 5. Size of the myocardial necrosis lesion caused by 45-minute ischemia and 120-minute reperfusion.

* – differences between the control and experimental groups are significant ($p < 0.05$)

ДИПерК + ДИПостК 10' (30') составил $26,9 \pm 2 \%$ ($p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой) (рис. 4).

Размер очага некроза у животных, подвергшихся воздействию только 45-минутной ишемии и 120-минутной реперфузии, в группе Контроль (45') составил $50,7 \pm 3 \%$ (рис. 5).

ДИПерК, применяемое на 10-й минуте 45-минутной ишемии миокарда, приводило к уменьшению зоны некротического поражения миокарда. Размер очага некроза в группе ДИПерК (45') составил $29,7 \pm 2 \%$ ($p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой) (рис. 5).

ДИПостК, применяемое на 10-й минуте 120-минутной реперфузии, также приводило к уменьшению очага некроза в миокарде. Размер очага некроза в группе ДИПостК 10' (45') составил $35,7 \pm 3 \%$ ($p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой) (рис. 5).

Применение комбинации ДИПерК и ДИПостК на 10-й минуте 45-минутной ишемии и на 10-й минуте 120-минутной реперфузии миокарда также приводило к уменьшению очага некроза в миокарде, однако не уменьшало размеров некроза по сравнению с применением каждого из кардиопротекторных алгоритмов в отдельности. Размер очага некроза в группе ДИПерК + ДИПостК 10' (45') составил $35,1 \pm 3 \%$ ($p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой) (рис. 5).

Также не было достоверных различий между опытными группами животных, подвергшихся 30- и 45-минутной ишемии.

Таким образом, ДИК, применяемое как в период 30-минутной ишемии и 120-минутной реперфузии, так и во время 45-минутной ишемии и 120-минутной реперфузии, вызывало кардиопротекторный эффект.

При планировании настоящего исследования мы полагали, что комбинированное применение ДИПерК с ДИПостК 10' окажет более выраженный кардиопротекторный эффект, чем каждое из этих воздействий в отдельности. Данное предположение основывалось на результатах исследования Basalay с соавт. (2012), свидетельствующих о том, что механизмы кардиопротекции различных алгоритмов ДИК отличаются. В настоящем исследовании подобная комбинация не приводила к усилению кардиопротекторного эффекта.

Проведение дополнительных фундаментальных исследований по изучению всех указанных механизмов ДИК было обусловлено результатами, полученными Hausenloy с соавт. (опубликованы в журнале Lancet [15]). Приведенные авторами данные, полученные на большом количестве пациентов (около 5 тыс.), убедительно показали что ДИК, применяемое непосредственно до начала восстановления кровотока и в начале реперфузии, не оказывает существенного эффекта на отдаленный прогноз у пациентов с инфарктом миокарда (смертность в течение года наблюдения и госпитализация по поводу сердечной недостаточности). Исследование проводилось в ведущих центрах по лечению инфаркта, скорость доставки пациента в ангиографический кабинет была высокой, а длительность ишемии – относительно кратковременной.

В исследованиях Eitel с соавт. (2015) и Е. А. Кореновой (2021) было показано, что комбинированное применение дистантного ишемического перекондиционирования и локального ишемического посткондиционирования в первом случае и дистантного ишемического пер- и посткондиционирования во втором случае приводит к уменьшению размера зоны некроза миокарда у пациентов, перенесших ОИМ [16, 17].

В исследовании Е. А. Кореновой (2021) проведен анализ данных 142 пациентов, включенных в исследование на основании следующих критериев: впервые развившийся ОИМ с подъемом

сегмента ST со средней длительностью болевого синдрома 140–160 мин, однососудистое окклюзирующее поражение передней межжелудочковой ветви ЛКА.

Дистантное ишемическое пер- и посткондиционирование в исследовании включало 4 последовательных 5-минутных цикла компрессии/декомпрессии верхней конечности манжетой для неинвазивного измерения АД, проводимых во время ишемии и через 90 мин после реперфузии. Дополнительно пациенты опытной и контрольной групп получали стандартную медикаментозную терапию согласно клиническим протоколам лечения ОИМ с подъемом сегмента ST.

По результатам исследования Е. А. Кореновой (2021) было установлено уменьшение зоны некроза миокарда, микроваскулярной обструкции в раннем и отсроченном периодах при проведении комбинации ДИПерК с ДИПостК в сочетании с пЧКВ по сравнению с изолированным пЧКВ. Также было показано снижение частоты наступления таких неблагоприятных клинических исходов, как смерть от кардиальных причин, повторная госпитализация по поводу декомпенсации хронической сердечной недостаточности и повторный инфаркт миокарда в течение 36 мес. после применения дистантного ишемического пре- и посткондиционирования в сочетании с первичным чрескожным коронарным вмешательством у лиц с ОИМ с подъемом сегмента ST.

Отсутствие потенцирования кардиопротекторного эффекта после комбинированного применения различных алгоритмов ДИК в нашем исследовании можно, предположительно, объяснить следующими факторами.

Применяемая в нашем исследовании модель 30-минутной ишемии у крыс вызывает такие же изменения в миокарде, что и ишемия продолжительностью 150–180 мин у людей, тогда как ишемия длительностью 45 мин у крыс соответствует примерно 230–270 мин ишемии у людей [18]. Таким образом, сопоставление времени ишемии в экспериментах с результатами клинических исследований показало, что ишемия длительностью 30 мин у крыс более соответствует длительности ишемии в клинических исследованиях.

Сравнивая результаты экспериментальных и клинических исследований ДИК, следует упомянуть важные отличия объектов исследования, а именно отличия гемодинамических показателей. Например, у крыс по сравнению с человеком значительно более высокие показатели ЧСС (300–450 уд/мин), АД (систолическое 110–140 мм рт. ст., диастолическое 80–100 мм рт. ст.) и др. Гемодинамические различия между крысами и человеком потенциально могут оказывать значительное влияние на рецептор-опосредованные механизмы кардиопротекции, включая эффективность ишемического кондиционирования. Это является одним из наиболее вероятных объяснений определенных ограничений использования модели ишемии/реперфузии миокарда у крыс.

Уменьшение длительности ишемии миокарда до 20 мин у крыс сопровождается уменьшением размера инфаркта в исследовании Kuzmin с соавт. (2000) [2]. В таких условиях выявление эффективности воздействий, направленных на ограничение размера инфаркта, является проблематичным.

Увеличение продолжительности ишемии до 45 мин и более, по-видимому, приводит к таким необратимым повреждениям миокарда, которые делают усиление кардиопротекторного эффекта с применением одного воздействия невозможным.

Таким образом, модель ОИМ миокарда у крыс имеет свои ограничения, связанные с быстрым наступлением необратимых изменений в миокарде при увеличении длительности ишемии, и использование ишемии длительностью 30 мин является более предпочтительным.

Заключение. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что дистантное ишемическое кондиционирование, применяемое во время ишемии различной длительности, приводит к уменьшению размеров очага некроза в миокарде.

Вместе с тем комбинированное применение этих воздействий не приводит к потенцированию кардиопротекторного эффекта по сравнению с каждым из этих воздействий, применяемых в отдельности.

Ишемия длительностью 30 мин является более предпочтительной для изучения новых кардиопротекторных воздействий.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Минздрав: 60 % смертей за январь–март обусловлены сердечно-сосудистыми заболеваниями // БЕЛТА. – URL: <https://belta.by/society/view/minzdrav-60-smertej-za-janvar-mart-obusloveny-serdechno-sosudistymi-zabolevanijami386749-2020> (дата обращения: 08.01.2025).
2. Effects of preconditioning on myocardial interstitial levels of ATP and its catabolites during regional ischemia and reperfusion in the rat / A. I. Kuzmin, A. V. Gourine, A. I. Molosh [et al.] // *Basic Research in Cardiology*. – 2000. – Vol. 95, N 2. – P. 127–136. <https://doi.org/10.1007/s003950050174>
3. Heusch, G. Myocardial ischemia/reperfusion: Translational pathophysiology of ischemic heart disease / G. Heusch // *Med.* – 2024. – Vol. 5, N 1. – P. 10–31. <https://doi.org/10.1016/j.medj.2023.12.007>
4. Myocardial protection with mild hypothermia / R. Tissier, B. Ghaleh, M. V. Cohen [et al.] // *Cardiovascular Research*. – 2012. – Vol. 94, N 2. – P. 217–225. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvr315>
5. Heusch, G. Vagal cardioprotection in reperfused acute myocardial infarction / G. Heusch // *JACC: Cardiovascular Interventions*. – 2017. – Vol. 10, N 15. – P. 1521–1522. <https://doi.org/10.1016/j.jcin.2017.05.063>
6. Regional ischemic “preconditioning” protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion / K. Przyklenk, B. Bauer, M. Ovize [et al.] // *Circulation*. – 1993. – Vol. 87, N 3. – P. 893–899. <https://doi.org/10.1161/01.cir.87.3.893>
7. Murry, C. E. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium / C. E. Murry, R. B. Jennings, K. A. Reimer // *Circulation*. – 1986. – Vol. 74, N 5. – P. 1124–1136. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.74.5.1124>
8. Impact of the timing of metoprolol administration during STEMI on infarct size and ventricular function / J. M. García-Ruiz, R. Fernández-Jiménez, A. García-Alvarez [et al.] // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2016. – Vol. 67, N 18. – P. 2093–2104. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.02.050>
9. Giustino, G. Ischemia-reperfusion injury and ischemic post-conditioning in acute myocardial infarction: Lost in transition / G. Giustino, G. D. Dangas // *Catheterization and Cardiovascular Interventions*. – 2017. – Vol. 90, N 7. – P. 1068–1069. <https://doi.org/10.1002/ccd.27436>
10. Remote ischemic post-conditioning of the lower limb during primary percutaneous coronary intervention safely reduces enzymatic infarct size in anterior myocardial infarction: a randomized controlled trial / G. Crimi, S. Pica, C. Raineri [et al.] // *JACC: Cardiovascular Interventions*. – 2013. – Vol. 6, N 10. – P. 1055–1063. <https://doi.org/10.1016/j.jcin.2013.05.011>
11. Remote ischaemic pre- and delayed postconditioning – similar degree of cardioprotection but distinct mechanisms / M. Basalay, V. Barsukevich, S. Mastitskaya [et al.] // *Experimental Physiology*. – 2012. – Vol. 97, N 8. – P. 908–917. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2012.064923>
12. Remote ischemic conditioning / G. Heusch, H. E. Bøtker, K. Przyklenk [et al.] // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2015. – Vol. 65, N 2. – P. 177–195. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2014.10.031>
13. Remote ischemic preconditioning immediately before percutaneous coronary intervention does not impact myocardial necrosis, inflammatory response, and circulating endothelial progenitor cell counts: a single center randomized sham controlled trial / A. Prasad, M. Gössl, J. Hoyt [et al.] // *Catheterization and Cardiovascular Interventions*. – 2013. – Vol. 81, N 6. – P. 930–936. <https://doi.org/10.1002/ccd.24443>
14. Remote ischemic preconditioning improves outcome at 6 years after elective percutaneous coronary intervention: the CRISP stent trial longterm follow-up / W. R. Davies, A. J. Brown, W. Watson [et al.] // *Circulation: Cardiovascular Interventions*. – 2013. – Vol. 6, N 3. – P. 246–251. <https://doi.org/10.1161/CIRCINTERVENTIONS.112.000184>
15. Effect of remote ischaemic conditioning on clinical outcomes in patients with acute myocardial infarction (CONDI-2/ERIC-PPCI): a single-blind randomised controlled trial / D. J. Hausenloy, R. K. Kharbanda, U. K. Møller [et al.] // *Lancet*. – 2019. – Vol. 394, N 10207. – P. 1415–1424. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32039-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32039-2)
16. Cardioprotection by combined intrahospital remote ischaemic preconditioning and postconditioning in ST-elevation myocardial infarction: the randomized LIPSIA CONDITIONING trial / I. Eitel, T. Stiermaier, K. P. Rommel [et al.] // *European Heart Journal*. – 2015. – Vol. 36, N 44. – P. 3049–3057. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehv463>
17. Комбинированный протокол дистантного ишемического кондиционирования как метод кардиопротекции у пациентов с острым инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST / Е. А. Коренева, Т. Л. Денисевич, А. Г. Мрочек, В. И. Стельмашок // *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины*. – 2021. – Т. 36, № 2. – С. 76–83.
18. Distinct cardioprotective mechanisms of immediate, early and delayed ischaemic postconditioning / V. Barsukevich, M. Basalay, J. Sanchez [et al.] // *Basic Research in Cardiology*. – 2015. – Vol. 110, N 1. – Art. 452. <https://doi.org/10.1007/s00395-014-0452-7>

References

1. Ministry of Health: 60% of deaths in January–March are due to cardiovascular diseases. *BELTA*. Available at: <https://belta.by/society/view/minzdrav-60-smertej-za-janvar-mart-obusloveny-serdechno-sosudistymi-zabolevanijami-386749-2020> (accessed 08.01.2025) (in Russian).
2. Kuzmin A. I., Gourine A. V., Molosh A. I., Lakomkin V. L., Vassort G. Effects of preconditioning on myocardial interstitial levels of ATP and its catabolites during regional ischemia and reperfusion in the rat. *Basic Research in Cardiology*, 2000, vol. 95, no. 2, pp. 127–136. <https://doi.org/10.1007/s003950050174>
3. Heusch G. Myocardial ischemia/reperfusion: Translational pathophysiology of ischemic heart disease. *Med*, 2024, vol. 5, no. 1, pp. 10–31. <https://doi.org/10.1016/j.medj.2023.12.007>
4. Tissier R., Ghaleh B., Cohen M. V., Downey J. M., Berdeaux A. Myocardial protection with mild hypothermia. *Cardiovascular Research*, 2012, vol. 94, no. 2, pp. 217–225. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvr315>
5. Heusch G. Vagal cardioprotection in reperfused acute myocardial infarction. *JACC: Cardiovascular Interventions*, 2017, vol. 10, no. 15, pp. 1521–1522. <https://doi.org/10.1016/j.jcin.2017.05.063>
6. Przyklenk K., Bauer B., Ovize M., Kloner R. A., Whittaker P. Regional ischemic “preconditioning” protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion. *Circulation*, 1993, vol. 87, no. 3, pp. 893–899. <https://doi.org/10.1161/01.cir.87.3.893>
7. Murry C. E., Jennings R. B., Reimer K. A. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*, 1986, vol. 74, no. 5, pp. 1124–1136. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.74.5.1124>
8. García-Ruiz J. M., Fernández-Jiménez R., García-Alvarez A., Pizarro G., Galán-Arriola C., Fernández-Friera L. [et al.]. Impact of the timing of metoprolol administration during STEMI on infarct size and ventricular function. *Journal of the American College of Cardiology*, 2016, vol. 67, no. 18, pp. 2093–2104. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.02.050>
9. Giustino G., Dangas G. D. Ischemia-reperfusion injury and ischemic post-conditioning in acute myocardial infarction: Lost in transition. *Catheterization and Cardiovascular Interventions*, 2017, vol. 90, no. 7, pp. 1068–1069. <https://doi.org/10.1002/ccd.27436>
10. Crimi G., Pica S., Raineri C., Bramucci E., De Ferrari G. M., Klersy C. [et al.]. Remote ischemic post-conditioning of the lower limb during primary percutaneous coronary intervention safely reduces enzymatic infarct size in anterior myocardial infarction: a randomized controlled trial. *JACC: Cardiovascular Interventions*, 2013, vol. 6, no. 10, pp. 1055–1063. <https://doi.org/10.1016/j.jcin.2013.05.011>
11. Basalay M., Barsukevich V., Mastitskaya S., Mrochek A., Pernow J., Sjöquist P.-O., Ackland G. L., Gourine A. V., Gourine A. Remote ischaemic pre- and delayed postconditioning – similar degree of cardioprotection but distinct mechanisms. *Experimental Physiology*, 2012, vol. 97, no. 8, pp. 908–917. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2012.064923>
12. Heusch G., Bøtker H. E., Przyklenk K., Redington A., Yellon D. Remote ischemic conditioning. *Journal of the American College of Cardiology*, 2015, vol. 65, no. 2, pp. 177–195. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2014.10.031>
13. Prasad A., Gössl M., Hoyt J., Lennon R. J., Polk L., Simari R., Holmes D. R., Rihal Ch. S., Lerman A. Remote ischemic preconditioning immediately before percutaneous coronary intervention does not impact myocardial necrosis, inflammatory response, and circulating endothelial progenitor cell counts: a single center randomized sham controlled trial. *Catheterization and Cardiovascular Interventions*, 2013, vol. 81, no. 6, pp. 930–936. <https://doi.org/10.1002/ccd.24443>
14. Davies W. R., Brown A. J., Watson W., McCormick L. M., West N. E. J., Dutka D. P., Hoole St. P. Remote ischemic preconditioning improves outcome at 6 years after elective percutaneous coronary intervention: the CRISP stent trial longterm follow-up. *Circulation: Cardiovascular Interventions*, 2013, vol. 6, no. 3, pp. 246–251. <https://doi.org/10.1161/CIRCINTERVENTIONS.112.000184>
15. Hausenloy D. J., Kharbanda R. K., Møller U. K., Ramlall M., Aarøe J., Butler R. [et al.]. Effect of remote ischaemic conditioning on clinical outcomes in patients with acute myocardial infarction (CONDI-2/ERIC-PPCI): a single-blind randomised controlled trial. *Lancet*, 2019, vol. 394, no. 10207, pp. 1415–1424. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32039-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32039-2)
16. Eitel I., Stiermaier T., Rommel K. P., Fuernau G., Sandri M., Mangner N. [et al.]. Cardioprotection by combined intrahospital remote ischaemic preconditioning and postconditioning in ST-elevation myocardial infarction: the randomized LIPSIA CONDITIONING trial. *European Heart Journal*, 2015, vol. 36, no. 44, pp. 3049–3057. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehv463>
17. Koreneva E. A., Denisevich T. L., Mrochek A. G., Stel'mashok V. I. Combined protocol of remote ischemic conditioning as a cardioprotection method in patients with ST-elevation myocardial infarction. *Sibirskii zhurnal*

klinicheskoi i eksperimental'noi meditsiny [Siberian journal of clinical and experimental medicine], 2021, vol. 36, no. 2, pp. 76–83 (in Russian).

18. Barsukevich V., Basalay M., Sanchez J., Mrochek A., Whittle J., Ackland G. L., Gourine A. V., Gourine A. Distinct cardioprotective mechanisms of immediate, early and delayed ischaemic postconditioning. *Basic Research in Cardiology*, 2015, vol. 110, no. 1, art. 452. <https://doi.org/10.1007/s00395-014-0452-7>

Информация об авторах

Сеvрукевич Валерий Васильевич – аспирант. Белорусский государственный медицинский университет (пр-т Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: valersev@gmail.com

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

Мрочек Александр Геннадьевич – академик, д-р мед. наук, профессор.

Information about the authors

Valery V. Sevrukevitch – Postgraduate student. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: valersev@gmail.com

Frantisek 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

Alexander G. Mrochek – Academician, D. Sc. (Med.), Professor.

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-4-281-292>

Поступила в редакцию 13.08.2025

Received 13.08.2025

**С. В. Коротков, Е. Г. Юркина, А. А. Сыманович, Е. А. Назарова,
И. П. Штурич, А. М. Дзядзько, С. И. Кривенко, О. О. Руммо**

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

МИНИМИЗАЦИЯ ИММУНОСУПРЕССИВНОЙ ТЕРАПИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ У ПАЦИЕНТОВ С ПОЧЕЧНЫМ ПОВРЕЖДЕНИЕМ

Аннотация. Цель исследования – оценить эффективность применения мезенхимальных стволовых клеток (МСК) для минимизации нефротоксичного воздействия такролимуса у реципиентов печеночного трансплантата с высоким риском развития острого почечного повреждения.

В рандомизированном проспективном исследовании приняли участие 60 пациентов после трансплантации печени: 30 пациентов получали комбинированную терапию МСК (локальное внутривенное и системное внутривенное введение), 30 человек – стандартную иммуносупрессивную терапию. В группе МСК установлено более быстрое восстановление функции трансплантата с ускоренным снижением АЛТ на 7-е и 10-е сутки ($p < 0,05$) при статистически значимо более низкой концентрации такролимуса во все сроки наблюдения (на 14-е сутки 4,8 (2,4; 5,7) нг/мл по сравнению с 6,3 (4,2; 8,8) нг/мл в группе контроля, $p = 0,005$). Частота иммунологической дисфункции трансплантата в обеих группах составила 20 %, однако в группе МСК отмечен более низкий индекс активности отторжения (RAI 6 (4; 7) против 7 (4; 8) баллов) и отсутствие случаев гуморального отторжения. Анализ иммунофенотипа выявил формирование «иммуносупрессивного окна» к 4-м суткам послеоперационного периода в группе МСК, характеризующегося снижением абсолютного количества CD16+56+ естественных киллеров и CD3+CD4+ эффекторных Т-клеток памяти при повышении уровня дендритных клеток и иммуносупрессивных В1а-лимфоцитов. Минимизация воздействия такролимуса способствовала более быстрому восстановлению почечной функции с более низкими уровнями креатинина ($p < 0,05$) и более высокими показателями скорости клубочковой фильтрации ($p < 0,05$). Продолжительность пребывания в отделении интенсивной терапии и общая длительность госпитализации в группе МСК были меньше.

Ключевые слова: трансплантация печени, мезенхимальные стволовые клетки, такролимус, нефротоксичность, острое почечное повреждение

Для цитирования: Минимизация иммуносупрессивной терапии с использованием мезенхимальных стволовых клеток при трансплантации печени у пациентов с почечным повреждением / С. В. Коротков, Е. Г. Юркина, А. А. Сыманович [и др.] // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2025. – Т. 22, № 4. – С. 281–292. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-4-281-292>

**Sergey V. Korotkov, Ekaterina G. Yurkina, Alla A. Symanovich, Ekaterina A. Nazarova,
Ivan P. Shturich, Alexandr M. Dzyadz'ko, Svetlana I. Krivenko, Oleg O. Rummo**

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

MINIMIZATION OF IMMUNOSUPPRESSIVE THERAPY USING MESENCHYMAL STEM CELLS IN LIVER TRANSPLANTATION IN PATIENTS WITH RENAL INJURY

Abstract. The aim of the study was to evaluate the possibility of using mesenchymal stem cells (MSCs) to minimize the nephrotoxic effects of tacrolimus in liver transplant recipients with high risk of developing acute kidney injury.

In a randomized prospective study, 60 patients who had undergone liver transplantation participated: 30 patients received combined MSC therapy (local intraportal and systemic intravenous administration), 30 patients received standard immunosuppressive therapy. In the MSC group, a faster recovery of graft function with an accelerated decrease in ALT on days 7 and 10 ($p < 0.05$) was established with a significantly lower tacrolimus concentration at all follow-up periods (on day 14: 4.8 (2.4; 5.7) ng/ml compared to 6.3 (4.2; 8.8) ng/ml in the control group, $p = 0.005$). The frequency of immunological graft dysfunction was 20% in both groups. However, in the MSC group exhibited a lower rejection activity index (RAI 6 (4; 7) versus 7 (4; 8) points) and no cases of humoral rejection. Analysis of the immunophenotype revealed the formation of an “immunosuppressive window” by the 4th day of the postoperative period in the MSC group, characterized by a decrease in the absolute number of CD16+56+ natural killer cells and CD3+CD4+ effector memory T-cells with an increase in the level of dendritic cells and immunosuppressive B1a-lymphocytes. The minimization of tacrolimus contributed

to faster recovery of renal function with lower creatinine levels ($p < 0.05$) and higher GFR values ($p < 0.05$). The duration of stay in the intensive care unit and the total duration of hospitalization in the MSC group were shorter.

Keywords: liver transplantation, mesenchymal stem cells, tacrolimus, nephrotoxicity, acute kidney injury

For citation: Korotkov S. V., Yurkina E. G., Symanovich A. A., Nazarova E. A., Shturich I. P., Dzyadz'ko A. M., Krivenko S. I., Rummo O. O. Minimization of immunosuppressive therapy using mesenchymal stem cells in liver transplantation in patients with renal injury. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2025, vol. 22, no. 4, pp. 281–292 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-4-281-292>

Введение. Острое почечное повреждение (ОПП) остается одной из наиболее клинически значимых проблем трансплантации печени (ТП), существенно ухудшающей результаты лечения пациентов [1–4]. Значительный вклад в развитие почечной дисфункции вносит включенный в современные протоколы иммуносупрессивной терапии (ИСТ) базовый препарат такролимус, обладающий нефротоксичным эффектом [5, 6].

Стандартные протоколы профилактики и лечения ОПП, индуцированного такролимусом, базируются на снижении дозы иммуносупрессанта. Однако такой подход ассоциирован с риском развития отторжения трансплантата [1, 6, 7].

Разработка инновационных подходов, обеспечивающих возможность редукции дозы такролимуса при сохранении адекватного иммунного статуса, является одной из приоритетных задач современной трансплантологии. Значительный научный интерес вызывает применение мезенхимальных стволовых клеток (МСК), демонстрирующих широкий спектр биологических эффектов, включая модуляцию и супрессию иммунологических процессов [8–12].

Цель работы – оценка эффективности применения мезенхимальных стволовых клеток для минимизации нефротоксичного воздействия такролимуса у реципиентов печеночного трансплантата с острым почечным повреждением.

Материалы и методы исследования. В основу разработки метода применения МСК при ТП легли результаты, полученные в ходе предшествующих исследований по двум приоритетным направлениям:

1. Анализ клинической эффективности различных способов введения МСК (системного и локального) при ТП [13].

2. Определение групп риска развития ОПП [14].

Дизайн исследования. Проведено интервенционное проспективное рандомизированное исследование с участием 60 пациентов. Участники были распределены на две группы: исследуемая группа (30 человек) получала терапию МСК, контрольная группа (30 человек) – стандартную ИСТ в соответствии с утвержденным клиническим протоколом [15].

Для участия в исследовании пациенты должны были соответствовать следующим критериям включения: риск развития ОПП – цирроз печени с оценкой тяжести по шкале Child-Pugh 10 баллов и более; массивная интраоперационная кровопотеря (1 200 мл и более); совершеннолетний возраст реципиентов; ТП от умершего донора.

Иммуносупрессивная терапия. ИСТ назначалась согласно клиническому протоколу МЗ РБ «Трансплантация печени: взрослое и детское население» [15]. Индукция ИСТ включала глюкокортикостероиды. Учитывая тяжесть состояния реципиентов и массивную кровопотерю, введения базиликсимаба не требовалось. После операции пациенты получали многокомпонентную поддерживающую ИСТ, включающую применение такролимуса, микофенолата мофетила и метилпреднизолона. При развитии ОПП осуществляли персонифицированный подход к назначению такролимуса: его введение откладывали до начала восстановления почечной функции с целевой концентрацией 5–10 нг/мл, которой руководствовались в контрольной группе исследования [15].

Метод иммуносупрессивной терапии с применением МСК. Разработанный метод ИСТ с применением МСК для пациентов группы повышенного риска ОПП включал:

1. Комбинированный подход к введению МСК. Он предполагал таргетную доставку клеточного продукта в порталный кровоток трансплантата во время операции (фиксированная доза $20 \cdot 10^6$ клеток) и системное введение, выполняемое в два этапа: в день операции и на 4-е сутки после трансплантации в расчетной дозе $2 \cdot 10^6$ клеток на 1 кг веса пациента при каждом введении.

2. Минимизацию воздействия ИСТ. Проведенное исследование [13] по изучению системного введения МСК продемонстрировало, что у пациентов после ТП при использовании МСК ранний послеоперационный период (РПОП) ассоциирован с иммуносупрессивной стабильностью, что позволяет безопасно отсрочить введение такролимуса и в последующем назначить его в редуцированной дозировке (целевая концентрация <5 нг/мл).

Критерии острого почечного повреждения. ОПП верифицировали при выявлении как минимум одного из трех критериев, соответствующих клиническим рекомендациям KDIGO (2012): 1) увеличение концентрации сывороточного креатинина на 26,5 мкмоль/л и более в 48-часовой период после операции; 2) рост уровня креатинина в сыворотке крови в 1,5 раза и более от базового показателя в течение 7 сут; 3) снижение диуреза до 0,5 мл/кг массы тела в течение 1 ч на протяжении 6 ч подряд [16].

Оценка почечной функции. Почечную функцию оценивали посредством определения лабораторных маркеров, среди которых использовали как стандартные (уровни креатинина и мочевины в сыворотке крови, протеинурия, расчетный показатель скорости клубочковой фильтрации (СКФ)), так и специализированные показатели почечного повреждения (альбуминурия, NGAL, уровни креатинина и мочевины в моче).

Морфологическое исследование трансплантата. Мониторинг состояния печеночного аллографта осуществляли с применением пункционной биопсии. Гистологические изменения и классификацию степени отторжения интерпретировали в соответствии с критериями Банффской системы. Для количественной оценки выраженности острого клеточного отторжения применяли индекс RAI (индекс активности отторжения). Гуморальное отторжение верифицировали методом иммуногистохимического анализа с определением депозитов C4d-компонента комплемента.

Методология статистической обработки данных. Для статистического анализа полученных результатов использовали программный пакет Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США). Проверку соответствия распределения показателей нормальному закону осуществляли с помощью W -критерия Шапиро–Уилка. При выявлении отклонений от нормального распределения результаты представляли в виде медианы (Me) с указанием интерквартильного диапазона [Q_{25} ; Q_{75}]. Для сравнительного анализа количественных параметров между группами использовали U -критерий Манна–Уитни (p_{MW}), а для сопоставления категориальных переменных – точный критерий Фишера с построением таблиц сопряженности (p_F). Корреляционный анализ по методу Спирмена (p_{Sp}) применяли для оценки взаимосвязи между количественными параметрами в исследуемых группах пациентов.

Результаты и их обсуждение. Респиенты обеих групп были сопоставимы по характеру патологии, клиническим, демографическим и донорским показателям. Тяжесть цирроза по шкале Child-Pugh в основной группе составила 10 (8; 12) баллов, в контрольной группе – 10 (8; 13) баллов ($p_{MW} > 0,05$). Объем кровопотери во время операции составил 1 200 (600; 2 500) мл в группе МСК и 1 400 (900; 2 200) мл в группе контроля ($p_{MW} > 0,05$).

Анализ результатов применения МСК продемонстрировал безопасность как при внутривенном, так и при внутривенном способе введения. Не зарегистрировано локальных осложнений (тромботических, геморрагических, повреждений венозной стенки) и системных реакций – гипотензии, эпизодов аритмии, повышения температуры и аллергических проявлений. Мониторинг состояния пациентов подтвердил хорошую переносимость клеточной терапии и отсутствие значимых побочных эффектов.

В течение первых суток послеоперационного периода (СПО) при лабораторном мониторинге отмечалось значительное увеличение активности аминотрансфераз (АСТ и АЛТ), что являлось биохимическим маркером ишемически-реперфузионного и консервационного повреждения (табл. 1).

В последующем отмечалась положительная динамика. В группе МСК нормализация функциональных параметров печени происходила быстрее. Сравнительный анализ выявил более низкие показатели печеночных ферментов (АСТ и АЛТ) у пациентов с клеточной терапией на 7-е и 10-е СПО ($p_{MW} < 0,05$) (табл. 1).

Таблица 1. Сравнительная характеристика лабораторных показателей функции печени в послеоперационном периоде

Table 1. Comparative characteristics of laboratory markers of liver function in the postoperative period

Показатель	Группа	СПО				min	max	$\Delta_{\max-\min}$
		1-е	4-е	7-е	10-е			
АСТ, Ед/л	МСК	1 776 (558; 2 425)	121 (76; 213)	57 (35; 97)	27 (19; 49)	25 (20; 42)*	26 (20; 56)*	0 (0; 9)
	Контроль	1 558 (849; 2 576)	170 (111; 272)	61 (39,5; 101,5)	35 (21; 70)	37 (21,5; 61)	43 (23; 122)	0 (0; 55)
АЛТ, Ед/л	МСК	938 (282; 1178)	332 (96; 391)	116 (67; 215)*	68 (34; 135)*	70 (54; 100)	78 (44; 121)*	0 (0; 23)
	Контроль	1 055 (530; 1 322)	306 (191; 487)	184 (110; 298)	99 (65; 187)	77 (46; 144)	87 (47; 242)	0 (0; 93)
Билирубин, мкмоль/л	МСК	71 (52; 148)	67 (30; 119)	43 (29; 128)	32 (20; 105)	24 (14; 64)	43 (21; 156)	28 (0; 79)
	Контроль	80 (31; 118)	66 (23; 87)	39,5 (19; 92)	30 (16; 62)	23,5 (15; 62)	50,5 (21; 128)	17 (4; 56)
ЩФ, Ед/л	МСК	94 (78,5; 171,5)	148 (105; 292)	159 (120; 283)	199 (132; 242)	99 (75; 146)	211,5 (134,5; 335,5)	109 (21; 163)
	Контроль	85 (70; 118,5)	131,5 (97; 214)	159,5 (115,5; 252,5)	205 (112; 236)	100 (70; 177)	187 (128; 286)	63 (23; 150)
ГГТП, Ед/л	МСК	74 (40; 132)	407,5 (230; 591,5)	430 (289; 572)	349,5 (213; 510)	275 (144; 428)	501,5 (220; 768,5)	99,5 (40; 370)
	Контроль	102 (68; 187)	379 (209; 678)	419 (238; 667)	326 (204; 580)	264 (69; 461)	484,5 (240; 783)	188 (62,5; 530)
МНО	МСК	1,5 (1,2; 1,7)	1,055 (0,98; 1,2)	1,01 (0,95; 1,08)	1 (0,96; 1,07)	0,97 (0,84; 1)	1,32 (0,96; 1,7)*	0,32 (0; 0,62)
	Контроль	1,47 (1,25; 1,82)	1,105 (1; 1,26)	1,09 (1; 1,22)	1,045 (0,97; 1,17)	1 (0,93; 1,08)	1,53 (1,3; 1,89)	0,48 (0,16; 0,87)

Примечание. Здесь и в табл. 2–8: * – отличия достоверны ($p < 0,05$) по отношению к контрольной группе.

Для комплексной оценки степени дисфункции трансплантата применяли анализ пиковых значений клинических параметров (max) в сопоставлении с их дельтой относительно предшествующих минимальных уровней (min). При неосложненном течении послеоперационного периода и стабильном функционировании пересаженного органа фиксировали равенство максимальных и минимальных показателей. Такой методологический подход позволял более точно характеризовать выраженность функциональных нарушений трансплантата.

У пациентов, получавших стандартную ИСТ, отмечались более высокие уровни трансаминаз (АСТ и АЛТ) (табл. 1).

Анализ динамики щелочной фосфатазы (ЩФ) и гамаглутамилтранспептидазы (ГГТП), являющихся маркерами холестаза, продемонстрировал отсутствие статистически значимых различий в РПОП (табл. 1).

Изучение уровня билирубина в группах показало, что разница между максимальным и минимальным значениями ($\Delta_{\max-\min}$) в группе МСК составило 28 (0; 79) мкмоль/л, что указывает на более стабильную динамику в снижении его содержания по сравнению с таковым в контрольной группе, где этот показатель был равен 17 (4; 56) мкмоль/л (табл. 1).

Анализ восстановления синтетической функции печени по уровню МНО продемонстрировал статистически значимо лучшие показатели в группе применения МСК (табл. 1).

Морфологическое исследование трансплантатов показало схожие результаты. В обеих группах было зафиксировано по 6 (20 %) случаев острого отторжения трансплантата. Тем не менее индекс RAI в группе контроля был выше – 7 (4; 8) баллов по сравнению с 6 (4; 7) баллами в группе МСК, при этом у 1 (3,3%) из 6 пациентов контрольной группы было диагностировано гуморальное отторжение.

Сравнение маркеров воспалительного синдрома выявило достоверно более низкие уровни палочкоядерных нейтрофилов (ПЯ), С-реактивного белка (CRP), прокальцитонина (ПКТ) в группе пациентов, получавших МСК (табл. 2).

Таблица 2. Сравнительная характеристика маркеров воспалительного синдрома

Table 2. Comparative characteristics of inflammatory syndrome markers

Показатель	Группа	СПО			
		1-е	4-е	7-е	10-е
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	МСК	9,4 (7; 12)	6,1 (3,37; 8,8)	7,9 (4,75; 10,7)	8,4 (5,7; 11)
	Контроль	11 (7,6; 14)	7,17 (5,1; 11)	9,2 (6,8; 13,3)	10 (7,9; 13,7)
ПЯ, %	МСК	13 (11; 16)	10 (5; 12)	10 (4; 14)	6 (3; 11)*
	Контроль	17 (12; 22,5)	12 (7; 16)	12 (7; 18)	9 (7; 12)
CRP, мг/л	МСК	47 (32; 68)	22 (14; 40)*	29 (15; 50)*	16 (9; 34)
	Контроль	59 (42; 81)	29 (21; 55)	38 (21; 74)	21 (15; 43)
ПКТ, нг/мл	МСК	11 (8,4; 25)	3,6 (1; 7)	1 (0,4; 2)	1,4 (0,5; 2,2)
	Контроль	11 (5,6; 26,3)	4,8 (1,6; 12,6)	2,44 (0,8; 4,5)	1 (0,2; 3,8)

Решение о начале терапии такролимусом принималось на основании положительных изменений функциональных показателей трансплантата печени и почек. При удовлетворительной функции трансплантата или наличии стабильного тренда к ее нормализации в основной группе пациентов реализовывалась стратегия отложенного назначения такролимуса в минимизированной дозе.

Динамика концентраций такролимуса в группах представлена в табл. 3.

Таблица 3. Сравнительная характеристика концентрации такролимуса в группах

Table 3. Comparative characteristics of tacrolimus concentration in groups

Показатель	Группа	СПО				
		2-е	4-е	7-е	10-е	14-е
Такролимус, нг/мл	МСК	0 (0; 0)	0,9 (0; 2,8)	2,9 (0,5; 5,2)	4,4 (2; 6)	4,8 (2,4; 5,7)
	Контроль	1 (0; 2,05)	2,1 (1; 3,5)	4 (2,2; 6,8)	5,5 (3,8; 7,3)	6,3 (4,2; 8,8)
p_{MW}		0,003	0,002	0,017	0,029	0,005

Стабильная функция трансплантата в группе МСК позволила поддерживать концентрацию такролимуса на более низком уровне на протяжении всего послеоперационного периода. При этом назначение такролимуса в основной группе исследования происходило на сутки позже – на 3-и (2; 4) СПО (в группе контроля – на 2-е (1; 3) СПО, $p_{\text{MW}} = 0,03$) (рис. 1).

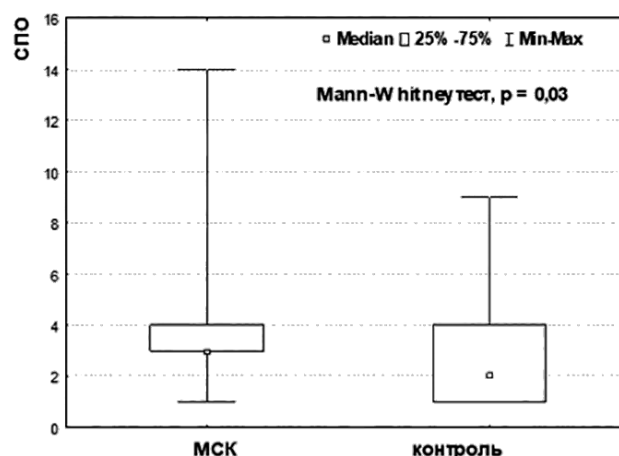


Рис. 1. Начало терапии такролимусом в группах, сутки

Fig. 1. Initiation of Tacrolimus therapy in groups, days

Минимизация воздействия такролимуса положительно отразилась на восстановлении почечной функции (табл. 4).

В РПОП у пациентов обеих групп наблюдалась почечная дисфункция: в первые 48 ч после операции повышались уровни мочевины и креатинина и снижалась СКФ (табл. 4).

Таблица 4. Сравнительная характеристика лабораторных показателей почечной функции

Table 4. Comparative characteristics of laboratory markers of renal function

Показатель	Группа	СПО						
		0-е	1-е	2-е	4-е	7-е	10-е	14-е
Мочевина, ммоль/л	МСК	5,7 (4; 11)	12 (7,5; 17,1)	14,7 (11;20,3)	13,5 (8,2; 22)	6,5 (5,2; 13)*	6,6 (5,8; 11)	8,6 (6,7; 10,6)
	Контроль	6,25 (4,5; 8,6)	12 (9,9; 14,4)	18,1 (12,6; 24)	16,75 (11,6; 22,45)	12,05 (6,85; 19,3)	8,65 (5,85; 17,7)	11 (5,1; 14)
Креатинин, мкмоль/л	МСК	67 (52; 91)	112 (79; 154)	138 (78; 172)	117 (62; 140)*	82 (50; 96)*	88 (53; 104)*	92 (50; 127)*
	Контроль	72,2 (57; 94,5)	127 (87,7; 156)	155 (91; 229)	142 (84; 185)	117 (78; 164)	108 (69; 132)	115 (63; 139)
СКФ, мл/мин	МСК	46 (29; 62)	37,5 (23; 52)	30,5 (17,5; 45)*	28 (18; 41)*	38 (30; 48)*	34 (27; 51)	37,5 (24,5; 46,5)*
	Контроль	42,5 (30,5; 58,6)	31,7 (14; 42)	23,6 (10; 29)	20 (15; 33,2)	27 (17; 43)	28 (14; 53)	31,3 (21; 48,6)

У пациентов, которым проводилась клеточная терапия, отмечалась более ранняя нормализация почечной функции с восстановлением нормальных значений мочевины и креатинина к 14-м СПО (табл. 4).

Для углубленного изучения функционального состояния почек и определения нефропротективного эффекта клеточной терапии были исследованы биомаркеры почечного повреждения в моче (табл. 5) и проанализирован клинически значимый показатель – суточный диурез (табл. 6).

Таблица 5. Сравнительная характеристика лабораторных показателей функции почек в моче

Table 5. Comparative characteristics of urinary laboratory markers of renal function

Показатель	Группа	СПО						
		0-е	1-е	2-е	4-е	7-е	10-е	14-е
Белок мочи, г/л	МСК	0,3 (0,1; 0,32)	0,86 (0,42; 1)	0,89 (0,23; 1,6)	0,77 (0,22; 1,16)	0,43 (0,16; 0,64)*	0,69 (0,1; 0,79)	0,36 (0,1; 0,63)*
	Контроль	0,21 (0,08; 0,32)	0,97 (0,27; 1,17)	0,53 (0,17; 1,5)	0,9 (0,16; 1,66)	0,85 (0,16; 1,11)	0,57 (0,12; 0,7)	0,58 (0,1; 0,8)
NGAL, нг/мл	МСК	70 (11; 399)	54,5 (30; 94)	93 (42; 248)	152,5 (16,5; 807)	97,5 (32; 280)	92 (17,5; 472)	15,5 (11; 540)
	Контроль	24 (12; 61)	47 (54; 185,4)	150 (33; 361)	138,5 (39; 295)	103 (38; 811)	65 (52; 557)	30 (14; 154)
maU, ммоль/л	МСК	19 (9; 44,5)	22,5 (11; 147)	65 (33; 138)	18 (14; 36)	13,5 (6; 75)	27,5 (5; 61)	5 (3; 20)
	Контроль	11 (6; 29)	80 (36; 192)	40,5 (31; 77)	30 (18,5; 62)	29 (9; 69)	24,5 (7; 50)	14 (7; 24,5)
U _{моч} , ммоль/л	МСК	150 (107; 267)	147 (67; 255)	200 (153; 278)	190 (110; 355)	153,5 (57,5; 281)	199 (164; 248)	197,5 (155,5; 223)
	Контроль	227 (175; 340)	102,5 (83; 194)	201 (127; 306)	265 (184; 395)	209,5 (183; 308)	181 (113; 286)	158 (107; 234)
U _{креат} , мкмоль/л	МСК	3 277 (1 978; 7 546)	5 744 (3 144; 8 115)	7 639 (3 509; 9 900)	3 800 (2 169; 5 890)*	4 104 (2 478; 8 761)	5 886 (3 360; 11 605)	5 330 (2 181; 8 333)
	Контроль	4 253 (2 106; 8 810)	7 732 (5 016; 11 335)	7 808 (3 867; 11 626)	6 339 (3 980; 8 860)	4505,5 (3 106; 9 128)	5459,5 (3 506; 9 266)	4 610 (2 950; 7 250)

Примечание. NGAL (Neutrophil gelatinase-associated lipocalin) – нейтрофильный желатиназа-ассоциированный липокалин, maU – микроальбуминурия, U_{моч} – мочевина мочи, U_{креат} – креатинин мочи.

Результаты исследования продемонстрировали более низкий уровень протеинурии практически во всех контрольных точках исследования (на 1, 2, 4, 7 и 14-е СПО); на 7-е и 14-е СПО разница имела статистическую значимость, $p_{\text{MW}} < 0,05$) (см. табл. 5). Динамика остальных маркеров характеризовалась волнообразными изменениями с перекрестным характером параметров между группами.

В группе с применением клеточной терапии показатели диуреза демонстрировали более положительную динамику, приближаясь к статистически значимым различиям на 3-и СПО: объем суточного диуреза достигал 2 055 (1 350; 3 200) против 1 435 (1 060; 2 275) мл/сут, а почасовой диурез составлял 85,88 (56,2; 133) против 59,9 (44,5; 95) мл/ч соответственно, $p_{\text{MW}} = 0,08$) (табл. 6).

Таблица 6. Динамика показателей диуреза в группах пациентов

Table 6. Dynamics of diuresis indicators in patient groups

Показатель	Группа	СПО						
		1-е	2-е	3-и	4-е	5-е	6-е	7-е
Диурез, мл/сут	МСК	700 (370; 900)	900 (450; 1 310)	2 055 (1 350; 3 200)	1 560 (830; 3 500)	1 585 (1 100; 2 240)	725 (350; 925)	1 525 (950; 2 100)
	Контроль	500 (300; 940)	940 (500; 1 450)	1 435 (1 060; 2 275)	1 300 (1 100; 2 200)	1 390 (645; 1 750)	900 (270; 1 700)	1 350 (470; 1 875)
Диурез, мл/ч	МСК	40 (26; 66,6)	40 (22; 55)	85,88 (56,2; 133)	65 (34,6; 146)	66,05 (45,8; 93,3)	30,2 (14,6; 38,5)	63,55 (39,6; 87,5)
	Контроль	34 (24; 60,6)	41 (20,8; 60,4)	59,9 (44,5; 95)	54 (46; 91,7)	57,9 (26,9; 72,9)	37,5 (11,3; 70,8)	56,25 (19,6; 78,1)

Учитывая более эффективное восстановление почечной функции при сниженной концентрации такролимуса в группе пациентов, получавших МСК, был осуществлен корреляционный анализ для выявления потенциальных взаимосвязей между функциональными показателями почек и концентрацией препарата. Результаты, полученные на 4-е СПО, продемонстрировали статистически значимую корреляционную зависимость между концентрацией такролимуса и уровнем креатинина, $p_{\text{Sp}} = 0,0177$) (рис. 2).

Данный результат, свидетельствующий о прямой причинно-следственной связи между выраженностью нарушения почечной функции и концентрацией иммуносупрессанта, подчеркивает важность минимизации дозы нефротоксичного препарата.

Проведенный анализ иммунофенотипа мононуклеаров периферической крови показал, что сочетание локальной и системной терапии МСК позволяет безопасно снижать дозу такролимуса без риска развития отторжения. Это связано с тем, что применение МСК способствует формированию благоприятного иммунологического статуса, характеризующегося несколькими важными особенностями.

Во-первых, на фоне введения МСК активность эффекторного звена иммунитета снижается. У пациентов основной группы наблюдалось статистически значимое снижение абсолютного количества CD16+56+ естественных киллеров на протяжении всего РПОП (4–14-е СПО) по сравнению с таковым в группе пациентов, находящихся на стандартной ИСТ (табл. 7). Кроме того, отмечалось уменьшение CD3+CD4+ эффекторных Т-клеток памяти (ТЕМ), играющих ключевую роль в развитии клеточного отторжения (табл. 7).

Во-вторых, отмечается стабилизация популяций дендритных клеток. Терапия МСК способствовала поддержанию стабильного уровня миелоидных (mDC) и плазмацитоидных (pDC) дендритных клеток. На 10-е СПО относительное количество mDC в группе МСК составило 0,222 (0,105; 0,31) %, что статистически значимо выше, чем в контрольной группе (0,125 (0,0785; 0,257) %, $p_{\text{MW}} < 0,05$). Аналогичная тенденция наблюдалась для pDC: 0,025 (0,004; 0,055) % против 0,011 (0,006; 0,024) % соответственно ($p_{\text{MW}} < 0,05$).

Данный эффект имеет важное клиническое значение, так как в группе стандартной иммуносупрессии снижение количества дендритных клеток связано с их миграцией в трансплантат и лимфоидные ткани, где они активируют аллоиммунный ответ.

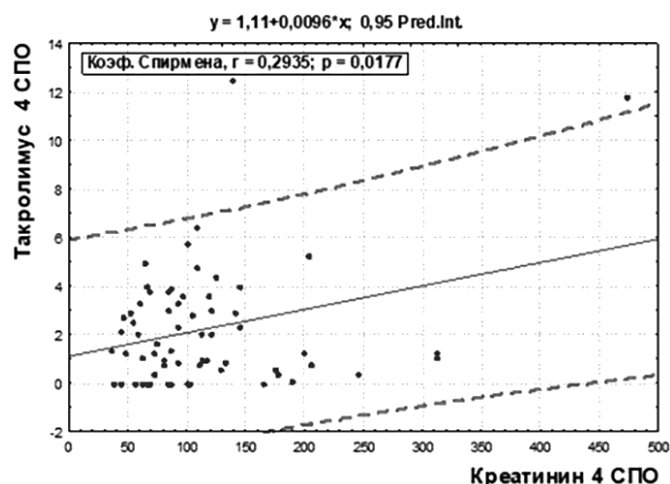


Рис. 2. Зависимость между показателями почечной функции (креатинина) и концентрацией такролимуса на 4-е СПО

Fig. 2. Association between renal function (creatinine) and tacrolimus concentration on postoperative day 4 (POD 4)

Таблица 7. Характеристика основных эффекторных популяций мононуклеоров периферической крови

Table 7. Characteristics of the major effector populations of peripheral blood mononuclear cells

Группа		СПО				
		0-е	4-е	7-е	10-е	14-е
CD16+56+ ЕК-клетки						
МСК	тыс/ мкл	0,1291 (0,0737; 0,1692)	0,0266 (0,0163; 0,0383)*	0,0646 (0,0287; 0,1027)*	0,0861 (0,0646; 0,1386)*	0,0935 (0,07; 0,1359)*
Контроль		0,1428 (0,0677; 0,2172)	0,0432 (0,021; 0,0652)	0,0943 (0,0534; 0,1615)	0,1466 (0,0763; 0,2174)	0,1373 (0,0724; 0,2307)
CD3+CD4+ CD45RA–CD62L– (эффекторные Т-клетки памяти, ТЕМ)						
МСК	тыс/ мкл	0,1076 (0,0396; 0,1466)	0,0129 (0,0085; 0,0344)*	0,0289 (0,0184; 0,0643)*	0,0674 (0,0382; 0,1196)	0,0721 (0,0305; 0,1013)
Контроль		0,0914 (0,044; 0,1854)	0,0258 (0,0162; 0,0569)	0,0605 (0,0321; 0,1071)	0,0761 (0,0452; 0,1199)	0,0885 (0,0454; 0,1822)

В-третьих, имеет место модуляция В-клеточного звена иммунитета. Анализ субпопуляций В-лимфоцитов показал, что у пациентов, получавших МСК, наблюдалось снижение абсолютного количества наивных зрелых CD19+CD27-IgD+IgM+ В-клеток и В-клеток маргинальной зоны (CD19+CD27-IgD+IgM+). На 7-е СПО количество В-клеток маргинальной зоны составило $0,0104 (0,0043; 0,0227) \cdot 10^3/\text{мкл}$ в группе МСК против $0,0218 (0,0054; 0,0312) \cdot 10^3/\text{мкл}$ в контрольной группе. При этом отмечалось повышение уровня иммуносупрессивных В1а-лимфоцитов (CD19+CD5+CD20+) до 5,1 (1,8; 16,5) % по сравнению с 3,95 (2,35; 10,4) % в контрольной группе на 14-е СПО (табл. 8).

Важно отметить, что проведенный анализ динамики иммунофенотипического профиля подтверждает ранее полученные данные о формировании стабильного «иммуносупрессивного окна» в послеоперационном периоде у пациентов, получавших МСК [13]. К 4-м суткам после трансплантации наблюдается значимое подавление эффекторных механизмов отторжения (снижение активности ЕК-клеток, эффекторных Т-клеток памяти, наивных зрелых В-лимфоцитов и МЗВ-клеток) при одновременном усилении регуляторных (дендритные клетки) и супрессорных (В1а-лимфоциты) компонентов иммунной системы. Эти изменения создают уникальную возможность для безопасной отсрочки назначения такролимуса с последующим применением его в редуцированной дозировке, что существенно снижает риск развития нефротоксических эффектов без риска иммунологической дисфункции печеночного аллогraftа.

Таблица 8. Характеристика субпопуляций В-лимфоцитов

Table 8. Characteristics of B-lymphocyte subpopulations

Группа		СПО				
		0-е	4-е	7-е	10-е	14-е
CD19+ наивные зрелые – CD19+ CD27– IgD+ IgM+ (naive B cells)						
МСК	тыс/	0,0801 (0,0283; 0,1441)	0,0869 (0,0317; 0,1908)	0,0791 (0,0261; 0,1816)*	0,1140 (0,0391; 0,2037)	0,0854 (0,0547; 0,1272)*
Контроль	мкл	0,0631 (0,0328; 0,1421)	0,1229 (0,0593; 0,2014)	0,1821 (0,0582; 0,2579)	0,1764 (0,0854; 0,3064)	0,1716 (0,0715; 0,3664)
В-клетки маргинальной зоны – CD19+ CD27+ IgD+ IgM+ (MZB клетки)						
МСК	тыс/	0,0074 (0,0034; 0,0199)	0,0073 (0,0035; 0,0163)	0,0104 (0,0043; 0,0227)*	0,0128 (0,0069; 0,0286)	0,0163 (0,0089; 0,0266)
Контроль	мкл	0,0069 (0,0031; 0,0102)	0,0091 (0,0047; 0,0243)	0,0218 (0,0054; 0,0312)	0,0189 (0,0098; 0,0449)	0,0181 (0,0086; 0,0337)
В1а-лимфоциты – CD19+ CD5+ CD20+						
МСК	%	10,5 (3,05; 23,35)	5,5 (1,8; 18,7)	5,65 (2,2; 15,1)	8,3 (2,0; 15,4)	5,1 (1,8; 16,5)*
Контроль		8,95 (3,7; 16,2)	5,3 (3,0; 12,7)	5 (2,7; 10,0)	6,05 (2,65; 10,1)	3,95 (2,35; 10,4)

Применение разработанной методики комбинированного использования МСК при ТП благоприятно отразилось на результатах лечения пациентов: медиана пребывания в отделении интенсивной терапии составила 3 (2; 4) сут по сравнению с 4 (3; 6) сут в контрольной группе; общая продолжительность стационарного лечения также была меньше в основной группе – 17 (15; 23) сут по сравнению с 20 (16; 26) сут в группе стандартной ИСТ.

Количество хирургических осложнений и показатели летальности в группах были сопоставимы.

Частота развития сосудистых осложнений составила: стеноз печеночной артерии – 2 (6,7 %) пациента в группе МСК, 3 (10 %) пациента в группе контроля ($p_F > 0,05$); стеноз воротной вены – 1 (3,3 %) пациент группы контроля ($p_F > 0,05$). Билиарные осложнения: желчеистечение отмечалось в группе контроля у 1 (3,3 %) пациента ($p_F > 0,05$), анастомотическая стриктура общего желчного протока – в каждой группе по 2 (6,7%) пациента ($p_F > 0,05$), ишемическая холангиопатия – у 1 (3,3 %) пациента в группе МСК. Инфекции области хирургического вмешательства (ИОХВ) были отмечены в обеих группах, и их частота не имела статистической значимости: поверхностная ИОХВ в группе МСК наблюдалась у 2, глубокая – также у 2 (6,7 %) пациентов; в группе контроля – у 1 (3,3 %) и 3 (10 %) пациентов соответственно. Релапаротомии по поводу внутрибрюшного кровотечения в основной группе выполнены у 3 (10 %) пациентов, в группе контроля – у 2 (6,7 %) ($p_F > 0,05$).

Летальность в группах пациентов была одинаковая и составила 6,7 % (по 2 пациента в каждой группе). Причиной летальных исходов явились инфекционные осложнения, которые привели к развитию сепсиса.

Выводы

1. Разработанный метод комбинированного введения МСК (локальное внутрипортальное и системное внутривенное) позволяет безопасно минимизировать дозу такролимуса у пациентов с высоким риском развития ОПП после ТП.

2. Применение МСК способствует формированию благоприятного «иммуносупрессивного окна» к 4-м суткам послеоперационного периода, характеризующегося подавлением эффекторного звена иммунитета (CD16+56+ естественные киллеры, CD3+CD4+ эффекторные Т-клетки памяти) при одновременном усилении регуляторных (дендритные клетки) и супрессорных (В1а-лимфоциты) компонентов иммунной системы.

3. Терапия МСК позволяет отсрочить назначение такролимуса в среднем на 3-и сутки (по сравнению со 2-ми сутками в контрольной группе, $p = 0,03$) и поддерживать его концентрацию на более низком уровне на протяжении всего РПОП (на 14-е сутки 4,8 (2,4; 5,7) нг/мл по сравнению с 6,3 (4,2; 8,8) нг/мл в контрольной группе, $p = 0,005$).

4. Минимизация воздействия такролимуса на фоне применения МСК способствует более быстрому восстановлению почечной функции, что подтверждается статистически значимо более низкими уровнями креатинина с 4-х по 14-е сутки послеоперационного периода ($p < 0,05$), более высокими показателями СКФ ($p < 0,05$) и более низким уровнем протеинурии на 7-е и 14-е сутки ($p < 0,05$). Корреляционный анализ подтвердил прямую зависимость между концентрацией такролимуса и уровнем креатинина ($p = 0,0177$).

5. В группе МСК наблюдалась более быстрая нормализация функциональных параметров печени с ускоренным снижением уровня АЛТ на 7-е и 10-е сутки послеоперационного периода ($p < 0,05$). При одинаковой частоте острого отторжения трансплантата в обеих группах (20 %) в группе МСК отмечены более низкий индекс активности отторжения (RAI 6 (4; 7) по сравнению с 7 (4; 8) баллами) и отсутствие случаев гуморального отторжения.

6. Применение МСК способствовало сокращению сроков пребывания пациентов в отделении интенсивной терапии (3 (2; 4) сут по сравнению с 4 (3; 6) сут в группе контроля) и общей продолжительности стационарного лечения (17 (15; 23) сут против 20 (16; 26) сут). При этом частота хирургических осложнений и показатели летальности были сопоставимы в обеих группах.

7. Анализ результатов применения МСК продемонстрировал высокий профиль безопасности как при внутривенном, так и при внутривенном способе введения. Не зарегистрировано специфических локальных осложнений (тромботических, геморрагических, повреждений венозной стенки) и системных реакций (гипотензии, аритмии, гипертермии, аллергических проявлений).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Dong, V. Post-liver transplant acute kidney injury / V. Dong, M. K. Nadim, C. J. Karvellas // *Liver Transplantation*. – 2021. – Vol. 27, N 11. – P. 1653–1664. <https://doi.org/10.1002/lt.26094>
2. Acute kidney injury after liver transplantation / F. Durand, C. Francoz, S. Asrani [et al.] // *Transplantation*. – 2018. – Vol. 102, N 10. – P. 1636–1649. <https://doi.org/10.1097/TP.0000000000002305>
3. Incidence and impact of acute kidney injury after liver transplantation: A meta-analysis / C. Thongprayoon, W. Kaewput, N. Thamcharoen [et al.] // *Journal of Clinical Medicine*. – 2019. – Vol. 8, N 3. – P. 1–25. <https://doi.org/10.3390/jcm8030372>
4. A meta-analysis of the cumulative incidence, risk factors, and clinical outcomes associated with chronic kidney disease after liver transplantation / S. Y. Lim, R. Wang, D. Tan [et al.] // *Transplant International*. – 2021. – Vol. 34, N 12. – P. 2524–2533. <https://doi.org/10.1111/tri.14149>
5. Raja, K. Post liver transplant renal dysfunction – evaluation, management and immunosuppressive practice / K. Raja, C. Panackel // *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*. – 2024. – Vol. 14, N 2. – Art. 101306. <https://doi.org/10.1016/j.jceh.2023.101306>
6. Farouk, S. S. The many faces of calcineurin inhibitor toxicity – what the FK? / S. S. Farouk, J. L. Rein // *Advances in Chronic Kidney Disease*. – 2020. – Vol. 27, N 1. – P. 56–66. <https://doi.org/10.1053/j.ackd.2019.08.006>
7. Calcineurin inhibitor associated nephrotoxicity in kidney transplantation – a transplant nephrologist's perspective / C. M. Hansen, S. Bachmann, M. Su [et al.] // *Acta Physiologica*. – 2025. – Vol. 241, N 5. – P. e70047. <https://doi.org/10.1111/apha.70047>
8. Mesenchymal stromal cells: promising treatment for liver cirrhosis / L. Yao, X. Hu, K. Dai [et al.] // *Stem Cell Research and Therapy*. – 2022. – Vol. 13, N 1. – P. 1–15. <https://doi.org/10.1186/s13287-022-03001-z>
9. Liver disease and cell therapy: advances made and remaining challenges / S. Khan, S. Mahgoub, N. Fallatah [et al.] // *Stem Cells*. – 2023. – Vol. 41, N 8. – P. 739–761. <https://doi.org/10.1093/stmcls/sxad029>
10. Gao, Y. Advance of mesenchymal stem cells in chronic end-stage liver disease control / Y. Gao, X. Yin, X. Ren // *Stem Cells International*. – 2022. – Vol. 2022. – Art. 1526217. <https://doi.org/10.1155/2022/1526217>
11. Mesenchymal stem cells for immune modulation in systemic lupus erythematosus: from bench research to clinical applications / A. R. Ginting, D. Munir, M. M. Amin [et al.] // *Narra Journal*. – 2024. – Vol. 4, N 3. – P. e994. <https://doi.org/10.52225/narra.v4i3.994>
12. Autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cell therapy with early tacrolimus withdrawal: The randomized prospective, single-center, open-label TRITON study / M. E. J. Reinders, K. Groeneweg, S. Hendriks [et al.] // *American Journal of Transplantation*. – 2021. – Vol. 21, N 9. – P. 3055–3065. <https://doi.org/10.1111/ajt.16528>
13. Оценка влияния системного применения мезенхимальных стволовых клеток на восстановление функции печеночного трансплантата в раннем послеоперационном периоде / С. Коротков, Н. И. Дедуля, И. А. Романова [и др.] // *Гепатология и гастроэнтерология*. – 2025. – Т. 9, № 1. – С. 29–37.

14. Периоперационные факторы риска развития острого повреждения почек при трансплантации печени / С. Коротков, В. В. Шамрук, А. Е. Щерба, О. О. Руммо // Медицинские новости. – 2022. – № 11. – С. 41–45.
15. Клинический протокол «Трансплантация печени (взрослое и детское население)»: утв. постановлением М-ва здравоохранения Респ. Беларусь от 13 февр. 2023 г. № 31 // Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь. – URL: <https://pravo.by/document/?guid=12551&p0=W22339846p> (дата обращения: 10.09.2025).
16. Kidney-international.org [Internet]. KDIGO. Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury // Kidney International Supplements. – 2012. – Vol. 2. – Iss. 1. – P. 1–138. URL: <http://kidney-international.org>.

References

1. Dong V., Nadim M. K., Karvellas C. J. Post-liver transplant acute kidney injury. *Liver Transplantation*, 2021, vol. 27, no. 11, pp. 1653–1664. <https://doi.org/10.1002/lt.26094>
2. Durand F., Francoz C., Asrani S., Khemichian S., Pham T., Sung R., Genyk Y. S., Nadim M. K. Acute kidney injury after liver transplantation. *Transplantation*, 2018, vol. 102, no. 10, pp. 1636–1649. <https://doi.org/10.1097/TP.0000000000002305>
3. Thongprayoon C., Kaewput W., Thamcharoen N., Bathini T., Watthanasuntorn K., Lertjitbanjong P. [et al.]. Incidence and impact of acute kidney injury after liver transplantation: A meta-analysis. *Journal of Clinical Medicine*, 2019, vol. 8, no. 3, pp. 1–25. <https://doi.org/10.3390/jcm8030372>
4. Lim S., Wang R., Tan D., Ng C., Lim W., Quek J., Syn N. [et al.]. A meta-analysis of the cumulative incidence, risk factors, and clinical outcomes associated with chronic kidney disease after liver transplantation. *Transplant International*, 2021, vol. 34, no. 12, pp. 2524–2533. <https://doi.org/10.1111/tri.14149>
5. Raja K., Panackel C. Post liver transplant renal dysfunction – evaluation, management and immunosuppressive practice. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*, 2024, vol. 14, no. 2, art. 101306. <https://doi.org/10.1016/j.jceh.2023.101306>
6. Farouk S., Rein J. The many faces of calcineurin inhibitor toxicity – what the FK? *Advances in Chronic Kidney Disease*, 2020, vol. 27, no. 1, pp. 56–66. <https://doi.org/10.1053/j.ackd.2019.08.006>
7. Hansen C., Bachmann S., Su M., Budde K., Choi M. Calcineurin inhibitor associated nephrotoxicity in kidney transplantation – a transplant nephrologist’s perspective. *Acta Physiologica*, 2025, vol. 241, no. 5, p. e70047. <https://doi.org/10.1111/apha.70047>
8. Yao L., Hu X., Dai K., Yuan M., Liu P., Zhang Q., Jiang Y. Mesenchymal stromal cells: promising treatment for liver cirrhosis. *Stem Cell Research and Therapy*, 2022, vol. 13, no. 1, pp. 1–15. <https://doi.org/10.1186/s13287-022-03001-z>
9. Khan S., Mahgoub S., Fallatah N., Lalor P. F., Newsome P. N. Liver disease and cell therapy: advances made and remaining challenges. *Stem Cells*, 2023, vol. 41, no. 8, pp. 739–761. <https://doi.org/10.1093/stmcls/sxad029>
10. Gao Y., Yin X., Ren X. Advance of mesenchymal stem cells in chronic end-stage liver disease control. *Stem Cells International*, 2022, vol. 2022, art. 1526217. <https://doi.org/10.1155/2022/1526217>
11. Ginting A. R., Munir D., Amin M. M., Darlan D. M., Putra A., Rusda M., Mutiara E., Mayasari E., Rozi M. F. Mesenchymal stem cells for immune modulation in systemic lupus erythematosus: from bench research to clinical applications. *Narra Journal*, 2024, vol. 4, no. 3, p. e994. <https://doi.org/10.52225/narra.v4i3.994>
12. Reinders M., Groeneweg K., Hendriks S., Bank J., Dreyer G., de Vries A. [et al.]. Autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cell therapy with early tacrolimus withdrawal: The randomized prospective, single-center, open-label TRITON study. *American Journal of Transplantation*, 2021, vol. 21, no. 9, pp. 3055–3065. <https://doi.org/10.1111/ajt.16528>
13. Korotkov S. V., Dedyulya N. I., Romanova I. A., Lebed’ O. A., Kruchenok E. Yu., Fedoruk A. M., Shcherba A. E., Krivenko S. I., Rummo O. O. Evaluation of mesenchymal stem cells systemic application effect on liver transplant function recovery in the early postoperative period. *Gepatologiya i gastroenterologiya* [Hepatology and gastroenterology], 2025, vol. 9, no. 1, pp. 29–37 (in Russian).
14. Korotkov S. V., Shamruk V. V., Shcherba A. E., Rummo O. O. Perioperative risk factors of acute kidney injury after liver transplantation. *Meditzinskie novosti* [Medical news], 2022, no. 11, pp. 41–45 (in Russian).
15. Clinical protocol “Liver transplantation (adult and pediatric population)”: approved by the Resolution of the Ministry of Health of the Republic of Belarus dated February 13, 2023, No. 31. *National Legal Internet Portal of the Republic of Belarus*. Available at: <https://pravo.by/document/?guid=12551&p0=W22339846p> (accessed 10.09.2025) (in Russian).
16. Kidney-international.org [Internet]. KDIGO. Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. *Kidney International Supplements*, 2012, vol. 2, iss. 1, pp. 1–138. URL: <http://kidney-international.org>.

Информация об авторах

Коротков Сергей Владимирович – канд. мед. наук, доцент. Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии (ул. Семашко, 8, 220045, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0002-8536-6911>. E-mail: skorotkov@tut.by

Юркина Екатерина Геннадьевна – врач клинической лабораторной диагностики. Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии (ул. Семашко, 8, 220045, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0002-0966-7456>. E-mail: ekatherina999@mail.ru

Information about the authors

Sergey V. Korotkov – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantation and Hematology (8, Semashko Str., 220045, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0002-8536-6911>. E-mail: skorotkov@tut.by

Ekaterina G. Yurkina – Doctor of clinical laboratory diagnostics. Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantation and Hematology (8, Semashko Str., 220045, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0002-0966-7456>. E-mail: ekatherina999@mail.ru

Сыманович Алла Александровна – канд. биол. наук, доцент. Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии (ул. Семашко, 8, 220045, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: alefyna@tut.by

Назарова Екатерина Александровна – канд. биол. наук, доцент. Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии (ул. Семашко, 8, 220045, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0001-7147-4834>. E-mail: k.nazarova-86@mail.ru

Штурич Иван Павлович – канд. мед. наук, доцент. Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии (ул. Семашко, 8, 220045, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0009-0002-3017-8056>. E-mail: ivan.shturich@mail.ru

Дзядзько Александр Михайлович – д-р мед. наук, профессор. Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии (ул. Семашко, 8, 220045, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0003-1965-1850>. E-mail: 2726996@gmail.com

Кривенко Светлана Ивановна – д-р мед. наук, профессор. Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии (ул. Семашко, 8, 220045, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0002-3011-2287>. E-mail: svtl_kr@tut.by

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). <https://orcid.org/0000-0001-7023-4767>. E-mail: olegrumm@tut.by

Alla A. Symanovich – Ph. D. (Biol.), Associate Professor. Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantation and Hematology (8, Semashko Str., 220045, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: alefyna@tut.by

Ekaterina A. Nazarova – Ph. D. (Biol.), Associate Professor. Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantation and Hematology (8, Semashko Str., 220045, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0001-7147-4834>. E-mail: k.nazarova-86@mail.ru

Ivan P. Shturich – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantation and Hematology (8, Semashko Str., 220045, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0009-0002-3017-8056>. E-mail: ivan.shturich@mail.ru

Alexandr M. Dzyadz'ko – D. Sc. (Med.), Professor. Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantation and Hematology (8, Semashko Str., 220045, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0003-1965-1850>. E-mail: 2726996@gmail.com

Svetlana I. Krivenko – D. Sc. (Med.), Professor. Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantation and Hematology (8, Semashko Str., 220045, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0002-3011-2287>. E-mail: svtl_kr@tut.by

Oleg O. Rummo – Academician, D. Sc. (Med.), Professor, Director. Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantation and Hematology (8, Semashko Str., 220045, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0001-7023-4767>. E-mail: olegrumm@tut.by

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.216-089.85

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-4-293-303>

Поступила в редакцию 15.04.2025

Received 15.04.2025

С. П. Рубникович¹, С. В. Сирак², И. А. Гатило², Ю. Л. Денисова¹,
А. С. Сирак³, В. Н. Ленев²

¹Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

²Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Российская Федерация

³Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Российская Федерация

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ СТРОЕНИЯ ПЕРЕДНЕЙ СТЕНКИ ВЕРХНЕЧЕЛЮСТНОГО СИНУСА ДЛЯ ПЛАНИРОВАНИЯ ОПЕРАЦИИ СУБАНТРАЛЬНОЙ АУГМЕНТАЦИИ ЛАТЕРАЛЬНЫМ СПОСОБОМ

Аннотация. При планировании операции субантральной аугментации латеральным способом важно учитывать анатомо-топографические особенности строения передней стенки верхнечелюстной пазухи, толщина которой зависит от пола, возраста и наличия жевательных зубов.

Цель исследования – оценка анатомо-топографических особенностей строения передней стенки верхнечелюстного синуса у пациентов разного возраста при различной степени адентии по данным распила скелетированных черепов и КЛКТ.

Проведен анализ данных 496 конусно-лучевых компьютерных томографий (КЛКТ) и распилов 254 сухих скелетированных черепов. Результаты исследования показали, что наибольшая толщина передней стенки отмечается у мужчин при наличии премоляров и моляров в возрасте 45–54 года, а наименьшая – у женщин при отсутствии премоляров и моляров в возрастной группе 65 лет и старше. Данные, полученные при изучении КЛКТ и распилов скелетированных черепов, совпадают.

Ключевые слова: верхнечелюстная пазуха, передняя стенка, синус-лифтинг, субантральная аугментация

Для цитирования: Клиническое значение строения передней стенки верхнечелюстного синуса для планирования операции субантральной аугментации латеральным способом / С. П. Рубникович, С. В. Сирак, И. А. Гатило [и др.] // Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2025. – Т. 22, № 4. – С. 293–303. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-4-293-303>

Sergey P. Rubnikovich¹, Sergey V. Sirak², Irina A. Gatilo, Yuliya L. Denisova¹,
Alexander S. Sirak³, Vadim N. Lenev²

¹Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

²Stavropol State Medical University, Stavropol, Russian Federation

³Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

CLINICAL SIGNIFICANCE OF THE STRUCTURE OF THE ANTERIOR WALL OF THE MAXILLARY SINUS FOR PLANNING THE SUBANTRAL AUGMENTATION OPERATION BY THE LATERAL METHOD

Abstract. When planning lateral subantral augmentation surgery, it is important to consider the anatomical and topographic features of the anterior wall of the maxillary sinus, the thickness of which depends on gender, age, and the presence of posterior teeth. The aim of this study was to evaluate the anatomical and topographic features of the anterior wall of the maxillary sinus in patients of different ages with varying degrees of edentulism, using sectional analysis of skeletal skulls and CBCT scans. Data from 496 cone-beam computed tomography (CBCT) scans and sectional analysis of 254 dry skeletal skulls was analyzed. The results showed that the greatest anterior wall thickness was observed in men aged 45–54 years with premolars and molars, while the thinnest was observed in women aged 65 years and older without premolars and molars. The data obtained from the analysis of CBCT and sections of skeletonized skulls are in agreement.

Keywords: maxillary sinus, anterior wall, sinus lift, subantral augmentation

For citation: Rubnikovich S. P., Sirak S. V., Gatilo I. A., Denisova Yu. L., Sirak A. S., Lenev V. N. Clinical significance of the structure of the anterior wall of the maxillary sinus for planning the subantral augmentation operation by the lateral method. *Vesti Natsyynal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2025, vol. 22, no. 4, pp. 293–303 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-4-293-303>

Введение. Изучение анатомо-топографических параметров и возрастных изменений передней стенки верхнечелюстного синуса (ПЧВС) является объектом особого внимания как стоматологов, так и оториноларингологов при выполнении различных хирургических вмешательств на верхней челюсти [1]. Особенности строения ПЧВС определяют оптимальные пути хирурги-

ческого доступа к важным анатомическим объектам средней зоны лица (верхнечелюстной синус (ВС), латеральная стенка носа, скулоорбитальный комплекс), а правильное понимание анатомии этой области позволяет избежать повреждения этих структур во время операции, предупредить возможные осложнения, такие как перфорация костной стенки синуса [2], перфорация мембраны слизистой оболочки синуса [3], синусит, периимплантит или другой воспалительный процесс [4]. Изучение особенностей строения ПСВС имеет важное клиническое значение при планировании операции синус-лифтинга латеральным способом [5]. Изучение вариантов строения ВС, его формы, типа пневматизации, объема, а также оценка костных структур позволяют индивидуализировать хирургический доступ и методику выполнения операции синус-лифтинга и других манипуляций [6]. Индивидуальные вариации в форме и размере ВС могут влиять на технику выполнения аугментации (например, более крупные синусы требуют другого подхода к аугментации по сравнению с более мелкими) [7]. Кроме того, ПСВС находится в непосредственной близости к корням зубов верхней челюсти и другим анатомическим образованиям, таким как сосуды и нервы [8]. Знание их расположения помогает избежать травм и минимизировать риск послеоперационных осложнений, таких как кровотечения или невралгии [9]. При этом толщина и плотность передней стенки могут варьироваться, что существенным образом влияет на выбор техники аугментации: слишком тонкая стенка увеличивает риск осложнений, поскольку может быть подвержена повреждениям [10]. Согласно данным литературы, изменение толщины ПСВС может быть связано с возрастом [11], полом [12], а также со степенью вторичной адентии [13]. Известно также, что форма и глубина клыковой ямки, а также толщина передней стенки синуса асимметричны как у мужчин, так и у женщин [14].

Таким образом, необходим глубокий анализ анатомо-топографических параметров ПСВС в зависимости от пола, возраста и степени вторичной адентии. Тщательное изучение строения ПСВС является важным шагом в планировании операции субантральной аугментации латеральным способом, что позволяет минимизировать риски и повысить вероятность успешного результата хирургического вмешательства.

Цель исследования – оценка анатомо-топографических особенностей строения передней стенки верхнечелюстного синуса у пациентов разного возраста при различной степени адентии по данным распила скелетированных черепов и КЛКТ.

Материалы и методы исследования. Изучено строение ПСВС по данным 496 конусно-лучевых компьютерных томографий (КЛКТ) и распилов 254 сухих скелетированных черепов. Все 496 пациентов, обследуемых с помощью КЛКТ, были разделены на три группы: первая группа – 288 КЛКТ пациентов с премолярами и молярами, вторая – 156 КЛКТ лиц с отсутствием хотя бы одного премоляра и моляра, третья – 52 КЛКТ пациентов с полным отсутствием премоляров и моляров.



Рис. 1. Измерение толщины ПСВС с помощью электронного штангенциркуля RGK SC-150

Fig. 1. Measuring the thickness of the anterior wall of the maxillary sinus using an electronic vernier caliper RGK SC-150

Скелетированные 254 черепа также были разделены на три группы: 48 черепов со всеми премолярами и молярами, 148 черепов с отсутствующим премоляром или моляром и 58 черепов с полным отсутствием премоляров и моляров. На сухих препаратах скелетированных черепов выпиливали переднюю стенку синуса и проводили измерения ее толщины с помощью электронного штангенциркуля RGK SC-150 (рис. 1) в пяти точках: верхнелатеральной, верхнемедиальной, нижнелатеральной, нижнемедиальной и центральной (рис. 2).

Для статистической обработки полученных данных использовали распределение Стьюдента с разностью выборочных средних и стандартной ошибкой на уровне значимости $\alpha = 0,05$, вычислением стандартного отклонения значения стандартной ошибки среднего, умноженного на квадратный корень из показателя численности каждой группы) и расчетом доверительного интервала: если $100(1 - \alpha)\%$ -й

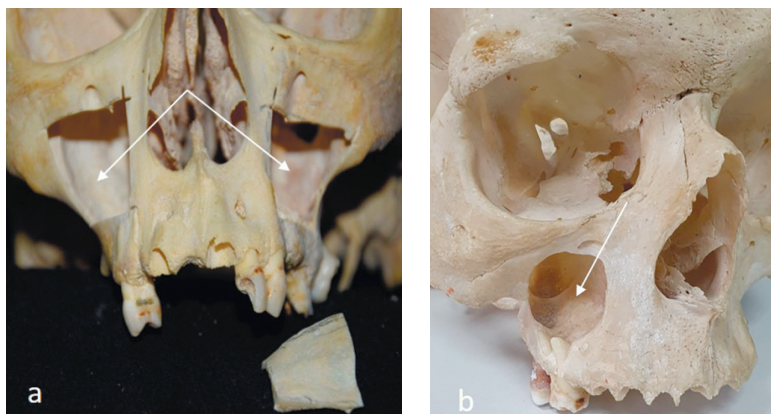


Рис. 2. Изображение костей лицевого черепа с выпиленными окончатыми дефектами прямоугольной (а) или округлой (b) формы для лучшей визуализации внутренней поверхности ПСВС (отмечено стрелками)

Fig. 2. Image of facial skull bones with cut-out rectangular (a) or round (b) shaped fenestrated defects for better visualization of the inner surface of the anterior wall of the maxillary sinus (marked with arrows)

доверительный интервал разности средних не содержит нуля, то различия статистически значимы ($p < \alpha$); если этот интервал содержит ноль, то различия статистически не значимы ($p > \alpha$).

Результаты исследования. Анализ результатов определения толщины ПСВС с помощью КЛКТ показал, что у мужчин с сохранившимися молярами и премолярами наибольшее среднее значение толщины ПСВС отмечалось в возрастной группе 45–54 года ($3,24 \pm 0,3$ мм), наименьшее – в возрасте 25–34 лет ($1,42 \pm 0,3$ мм). У женщин с сохраненным зубным рядом наибольший средний показатель толщины ПСВС наблюдался в возрасте от 35 до 44 лет ($1,65 \pm 0,1$ мм), наименьший – в возрасте от 25 до 34 лет ($0,8 \pm 0,2$ мм) (табл. 1, рис. 3).

Таблица 1. Средние значения толщины передней стенки верхнечелюстного синуса, рассчитанные с помощью КЛКТ

Table 1. Average values of the thickness of the anterior wall of the maxillary sinus, calculated using CBCT

Возрастная группа	Пол	Наличие премоляров и моляров			Отсутствие премоляра или моляра			Полное отсутствие премоляров и моляров		
		Всего наблюдений	R, мм	L, мм	Всего наблюдений	R, мм	L, мм	Всего наблюдений	R, мм	L, мм
25–34	М	28** (14*)	1,68	1,12	14** (7*)	1,48	1,08	–		
	Ж	28 (14)	0,98	0,61	16 (8)	1,48	0,99	–		
35–44	М	28 (14)	2,69	2,01	16 (8)	1,46	1,37	2 (1)	1,06	1,02
	Ж	30 (15)	1,54	1,76	16 (8)	1,16	1,27	2 (1)	1,25	0,78
45–54	М	30 (15)	3,51	2,97	12 (6)	2,97	2,46	8 (4)	1,39	1,97
	Ж	28 (14)	0,89	1,05	18 (9)	1,67	1,46	10 (5)	1,12	1,08
55–64	М	30 (15)	1,64	1,49	18 (9)	1,38	1,17	10 (5)	1,31	0,97
	Ж	28 (14)	1,02	1,07	16 (8)	0,97	0,48	10 (5)	0,84	0,61
65 лет и старше	М	30 (15)	2,10	1,78	14 (7)	0,75	0,97	10 (5)	0,64	0,49
	Ж	28 (14)	0,79	0,96	8 (4)	0,61	0,69	6 (3)	0,68	0,45
Всего		288 (144)			156 (78)			52		

Примечание. Здесь и в табл. 2: * – одна верхняя челюсть, ** – левая и правая верхнечелюстные пазухи, R – правая верхнечелюстная пазуха, L – левая верхнечелюстная пазуха.

Определение толщины ПСВС с помощью КЛКТ у пациентов с отсутствующим премоляром или моляром показало следующие результаты: наибольшая средняя толщина кости отмечалась в возрасте от 45 до 54 лет ($2,72 \pm 0,3$ мм у мужчин и $1,57 \pm 0,1$ мм у женщин), наименьшая – в возрасте 65 лет и старше ($0,86 \pm 0,1$ мм у мужчин и $0,65 \pm 0,04$ мм у женщин) (табл. 1, рис. 4).

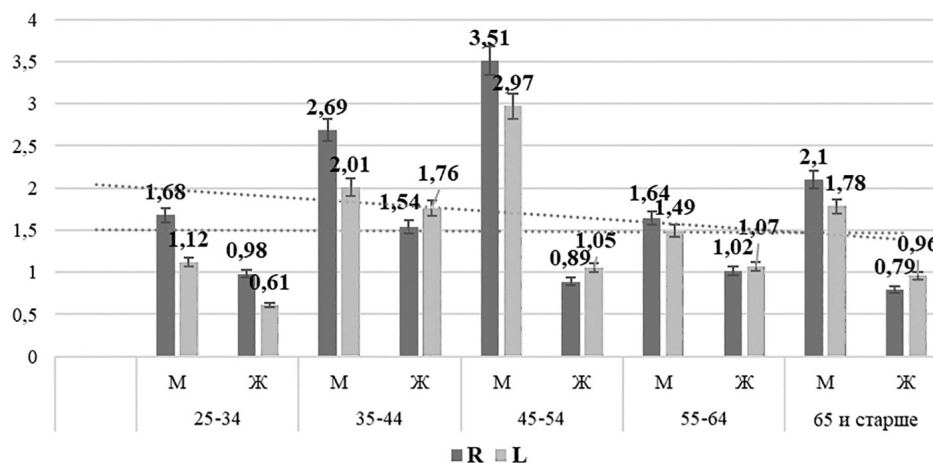


Рис. 3. Средние значения толщины передней стенки верхнечелюстного синуса у пациентов с сохранными премолярами и молярами, рассчитанные с помощью КЛКТ, мм.

Здесь и на рис. 4–8: R – правая верхнечелюстная пазуха, L – левая верхнечелюстная пазуха

Fig. 3. Average values of the thickness of the anterior wall of the maxillary sinus in patients with preserved premolars and molars, calculated using CBCT, mm. Here and in Fig. 4–8: R – right maxillary sinus, L – left maxillary sinus

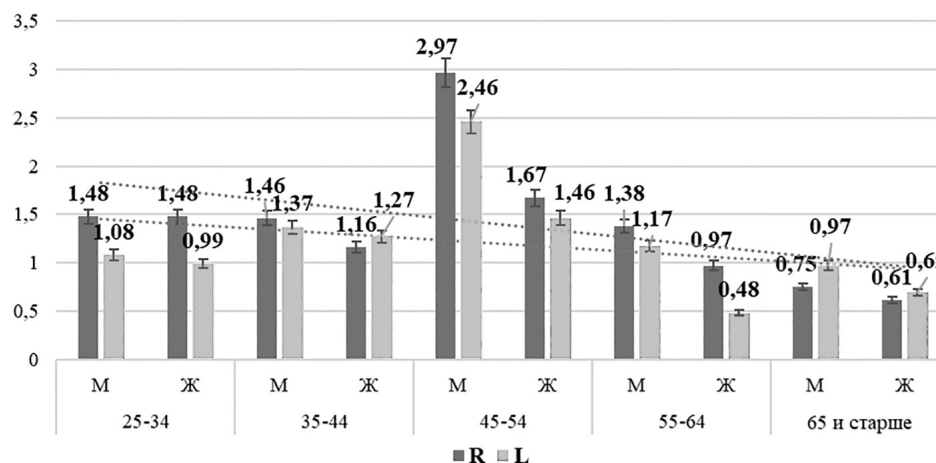


Рис. 4. Средние значения толщины передней стенки верхнечелюстного синуса у пациентов с отсутствующим премоляром или моляром, рассчитанные с помощью КЛКТ, мм

Fig. 4. Average values of the thickness of the anterior wall of the maxillary sinus in patients with a missing premolar or molar, calculated using CBCT, mm

Расчет средних значений толщины ПСВС с помощью КЛКТ у пациентов с полным отсутствием премоляров и моляров показал, что наибольшие средние значения также отмечались в возрастных группах 45–54 года как у мужчин ($1,68 \pm 0,3$ мм), так и у женщин ($1,10 \pm 0,02$ мм), наименьшие – в возрасте 65 лет и старше ($0,57 \pm 0,01$ мм у лиц обоего пола) (табл. 1, рис. 5).

Анализ результатов определения толщины ПСВС на сухих препаратах показал, что у мужчин с сохранившимися молярами и премолярами наибольшее среднее значение толщины ПСВС отмечалось в возрастной группе 45–54 года ($3,28 \pm 0,41$ мм), наименьшее – в возрасте 25–34 лет ($1,11 \pm 0,19$ мм). У женщин с сохранным зубным рядом наибольший средний показатель толщины ПСВС наблюдался в возрасте от 35 до 44 лет ($1,2 \pm 0,19$ мм), наименьший – в возрасте от 25 до 34 лет ($0,68 \pm 0,07$ мм) (табл. 2, рис. 6).

Определение толщины ПСВС с помощью КЛКТ у пациентов с отсутствующим премоляром или моляром показало следующие результаты: наибольшая средняя толщина кости отмечалась в возрасте от 45 до 54 лет у мужчин ($2,46 \pm 0,3$ мм) и в возрасте от 35 до 44 лет у женщин ($1,12 \pm 0,06$ мм), наименьшая – в возрасте 65 лет и старше ($0,81 \pm 0,06$ мм у мужчин и $0,61 \pm 0,04$ мм у женщин) (табл. 2, рис. 7).

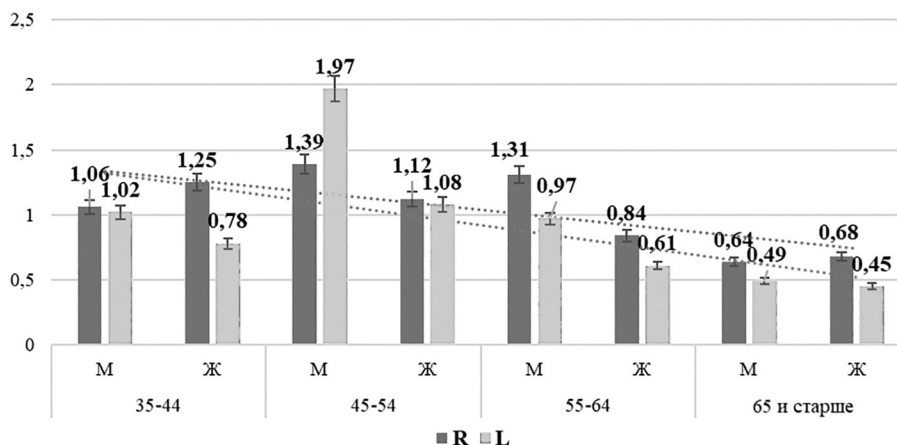


Рис. 5. Средние значения толщины передней стенки верхнечелюстного синуса у пациентов с полным отсутствием премоляров и моляров, рассчитанные с помощью КЛКТ, мм

Fig. 5. Average values of the thickness of the anterior wall of the maxillary sinus in patients with complete absence of premolars and molars molar, calculated using CBCT, mm

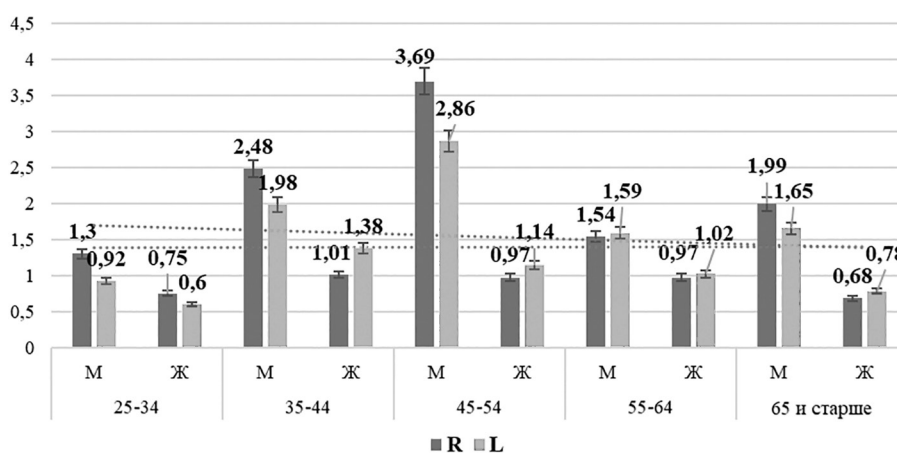


Рис. 6. Средние значения толщины передней стенки верхнечелюстного синуса у пациентов с сохранными премолярами и молярами, рассчитанные на сухих препаратах, мм

Fig. 6. Average values of the thickness of the anterior wall of the maxillary sinus on dry preparations with preserved premolars and molars, mm

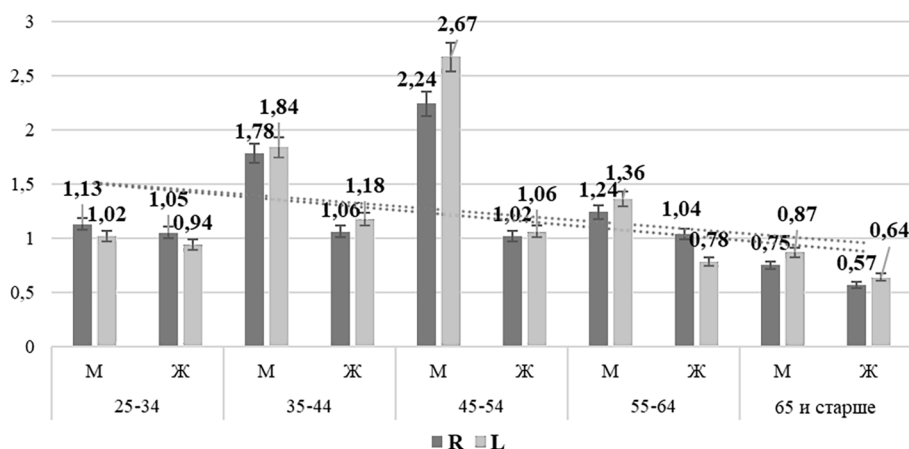


Рис. 7. Средние значения толщины передней стенки верхнечелюстного синуса у пациентов с отсутствующим премоляром или моляром, рассчитанные на сухих препаратах, мм

Fig. 7. Average values of the thickness of the anterior wall of the maxillary sinus on dry preparations in patients with a missing premolar or molar, calculated on dry preparations, mm

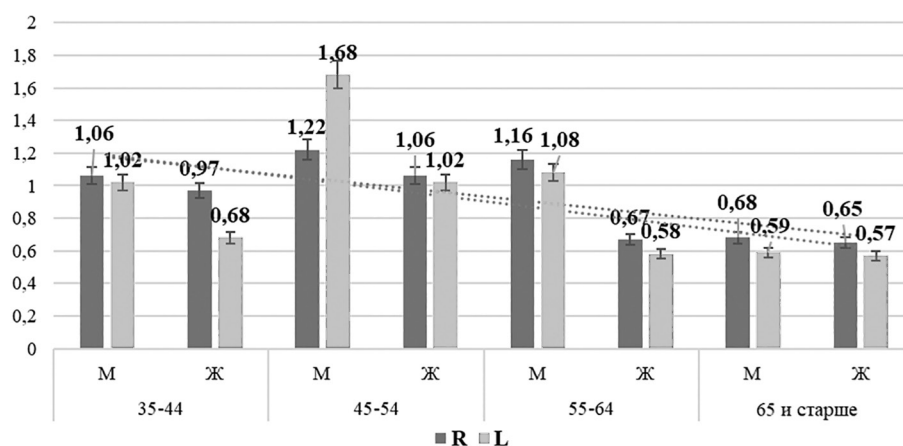


Рис. 8. Средние значения толщины передней стенки верхнечелюстного синуса у пациентов с полным отсутствием премоляров и моляров, рассчитанные на сухих препаратах, мм

Fig. 8. Results of determining the thickness of the anterior wall of the maxillary sinus on dry preparations in patients with complete absence of premolars and molars, calculated on dry preparations, mm

Расчет средних значений толщины ПСВС с помощью КЛКТ у пациентов с полным отсутствием премоляров и моляров показал, что наибольшие средние значения также отмечались в возрастных группах 45–54 года как у мужчин ($1,45 \pm 0,23$ мм), так и у женщин ($1,04 \pm 0,02$ мм), а наименьшие – в возрасте 65 лет и старше ($0,64 \pm 0,05$ мм у мужчин и $0,61 \pm 0,04$ мм у женщин) (табл. 2, рис. 8).

Таблица 2. Средние значения толщины передней стенки верхнечелюстного синуса, рассчитанные на сухих препаратах

Table 2. Results of determining the thickness of the anterior wall of the maxillary sinus, calculated on dry preparations

Возрастная группа	Пол	Наличие премоляров и моляров			Отсутствие премоляра или моляра			Полное отсутствие премоляров и моляров		
		Всего наблюдений	R, мм	L, мм	Всего наблюдений	R, мм	L, мм	Всего наблюдений	R, мм	L, мм
25–34	М	4** (2*)	1,30	0,92	14** (7*)	1,13	1,02	–		
	Ж	6 (3)	0,75	0,60	16 (8)	1,05	0,94	–		
35–44	М	6 (3)	2,48	1,98	16 (8)	1,78	1,84	2 (1)	1,06	1,02
	Ж	4 (2)	1,01	1,38	16 (8)	1,06	1,18	2 (1)	0,97	0,68
45–54	М	4 (2)	3,69	2,86	12 (6)	2,24	2,67	8 (4)	1,22	1,68
	Ж	6 (3)	0,97	1,14	18 (9)	1,02	1,06	10 (5)	1,06	1,02
55–64	М	4 (2)	1,54	1,59	18 (9)	1,24	1,36	10 (5)	1,16	1,08
	Ж	4 (2)	0,97	1,02	16 (8)	1,04	0,78	10 (5)	0,67	0,58
65 лет и старше	М	6 (3)	1,99	1,65	14 (7)	0,75	0,87	10 (5)	0,68	0,59
	Ж	4 (2)	0,68	0,78	8 (4)	0,57	0,64	6 (3)	0,65	0,57
Всего		48 (24)			148 (74)			58 (29)		

Обсуждение. Данные об анатомии ПСВС позволяют хирургу выбрать оптимальный доступ для выполнения субантральной аугментации, что может повысить эффективность операции и уменьшить риск операционной травмы [14]. При проведении операции субантральной аугментации в ПСВС сначала формируется окно (боковым доступом), а при наличии высоких корональных перегородок в полости ВС возможно формирование двух окон доступа – медиально и латерально относительно септы [15].

По данным ряда авторов, осложнения в виде перфорации мембраны прямо ассоциированы с наличием перегородок и артериальных анастомозов, а также с возрастом, полом, правым/левым синусом, опытом врача, типом инструмента и выбором методики проведения операции субантральной аугментации [16]. По некоторым данным, частота перфорации мембраны ВС достоверно

связана с толщиной ее стенок, шириной синусов, размером латерального доступа и наличием патологических изменений [17].

По мере увеличения возраста обследуемых отмечается уменьшение толщины ПСВС. Данное исследование проводилось для обоснования выбора методики доступа к ВС при различных патологиях: гранулематозном периодонтите, радикулярной кисте верхних жевательных зубов, одонтогенном синусите с грибковым телом ВС. При толстой ПСВС анатомически обосновано использование бора для обеспечения хирургического доступа к полости ВС [18].

Другие авторы отмечают доступ к ВС через переднюю стенку травмоопасным и требующим выполнения костной пластики для восстановления ее целостности [19].

Изучение особенностей строения и межтканевых взаимодействий мукопериостеума ПСВС имеет важное значение для челюстно-лицевых хирургов, стоматологов и оториноларингологов [20]. Анализ общей морфометрии позволил детализировать строение как мембраны Шнейдера, так и внутренней поверхности ПСВС. Отмечены участки поперечных связей между коллагеновыми волокнами и эндоостом как единого структурно-функционального комплекса [21].

В других исследованиях проводился морфометрический анализ строения ВС на основе данных трехмерного комплекса тканей. Изучались толщина стенок синуса в премолярной и молярной областях, угол отклонения в области второго премоляра, ширина, форма и особенности изогнутости стенок синуса [22].

По данным авторов, при изучении особенностей строения ПСВС отмечалась асимметрия правой и левой ПСВС. Исследованы глубина, ширина и форма клыковой ямки в возрасте 5–60 лет. Максимальная толщина ПСВС отмечена у детей в возрасте 5–7 лет, минимальная – у лиц в возрасте 36–60 лет. Толщина ПСВС зависит от возраста. Глубина клыковой ямки с возрастом увеличивается, дно клыковой ямки также претерпевает изменения в виде смещения от клыка в сторону премоляров [23].

Согласно данным других исследований, перфорация мембраны при субантральной аугментации латеральным способом связана не только с толщиной передней стенки пазухи, но и с толщиной самой мембраны Шнейдера: в ретроспективном исследовании рассмотрены данные пациентов, перенесших одноэтапную аугментацию латерального окна синуса в сочетании с эндоскопической хирургией околоносовых пазух [24]. В другом исследовании анализ предоперационных изображений КЛКТ с целью оценки возможной связи между толщиной мембраны, остаточной высотой кости и перфорацией мембраны показал, что чем тоньше костные анатомические структуры и меньше толщина мембраны, тем чаще перфорируется мембрана во время хирургического вмешательства. Существенным фактором для негативного прогноза после дентальной имплантации на верхней челюсти являются также возможные патоморфологические изменения в слизистой оболочке ВС, возникающие как вследствие периимплантита, так и в результате возрастных резорбтивных изменений костных структур верхней челюсти [25].

По данным КЛКТ, наибольшая толщина правой ПСВС отмечалась у мужчин в возрасте 45–54 лет с сохраненными премолярами и молярами ($3,24 \pm 0,3$ мм), наименьшая – в возрасте 25–34 лет ($1,4 \pm 0,3$ мм). Наименьшая толщина передней стенки слева при отсутствии жевательных зубов отмечалась у женщин в возрастной группе 65 лет и старше ($0,45 \pm 0,01$ мм).

Анализ результатов определения толщины ПСВС на сухих препаратах показал, что у мужчин с сохранившимися молярами и премолярами наибольшее среднее значение толщины ПСВС отмечалось в возрастной группе 45–54 года ($3,28 \pm 0,41$ мм), наименьшее – в возрасте 25–34 лет ($1,11 \pm 0,19$ мм). По данным, полученным при распилах, наименьшее значение толщины передней стенки отмечалось у женщин с полным отсутствием жевательных зубов в возрасте 65 лет и старше ($0,57 \pm 0,01$ мм).

Выводы. Толщина передней стенки верхнечелюстного синуса зависит от целостности зубного ряда верхней челюсти и возраста обследованных. По данным КЛКТ, наибольшая толщина передней стенки верхнечелюстного синуса при наличии премоляров и моляров отмечается у мужчин в возрасте 45–54 лет, что согласуется с данными, полученными при распилах скелетированных черепов. У женщин толщина передней стенки существенно меньше, чем у мужчин, даже при наличии сохранившихся моляров и премоляров верхней челюсти, а толщина передней

стенки справа больше, чем слева. При вторичной адентии с утратой премоляров и моляров толщина костной ткани передней стенки верхнечелюстного синуса и у мужчин, и у женщин уменьшается. Наименьшая толщина передней стенки отмечается у женщин с полным отсутствием премоляров и моляров в возрастной группе 65 лет и старше.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Mularczyk, C. Maxillary sinus anatomy and physiology / C. Mularczyk, K. Welch // *Otolaryngologic Clinics of North America*. – 2024. – Vol. 57, N 6. – P. 991–1006. <https://doi.org/10.1016/j.otc.2024.07.004>
2. Complications of sinus floor elevation procedure and management strategies: a systematic review / Y. T. Hsu, P. S. Rosen, K. Choksi [et al.] // *Clinical Implant Dentistry and Related Research*. – 2022. – Vol. 24, N 6. – P. 740–765. <https://doi.org/10.1111/cid.13086>
3. Sala, Y. M. Clinical outcomes of maxillary sinus floor perforation by dental implants and sinus membrane perforation during sinus augmentation: a systematic review and meta-analysis / Y. M. Sala, H. Lu, B. R. Chrcanovic // *Journal of Clinical Medicine*. – 2024. – Vol. 13, N 5. – Art. 1253. <https://doi.org/10.3390/jcm13051253>
4. Influence of schneiderian membrane perforation on implant survival rate: systematic review and meta-analysis / V. Schiavo-Di Flaviano, S. Egido-Moreno, B. González-Navarro [et al.] // *Journal of Clinical Medicine*. – 2024. – Vol. 13, N 13. – Art. 3751. <https://doi.org/10.3390/jcm13133751>
5. Odontogenic sinusitis is a common cause of operative extra-sinus infectious complications / J. E. Douglas, T. Patel, B. Rullan-Oliver [et al.] // *American Journal of Rhinology and Allergy*. – 2022. – Vol. 36, N 6. – P. 808–815. <https://doi.org/10.1177/19458924221114941>
6. Roccuzzo, M. Surgical treatment of peri-implantitis / M. Roccuzzo, D. Mirra, A. Roccuzzo // *British Dental Journal*. – 2024. – Vol. 236, N 10. – P. 803–808. <https://doi.org/10.1038/s41415-024-7405-9>
7. Dental evaluation: oral surgery-related complications / R. Scaini, A. Berzaghi, A. M. Saibene, S. Taschieri // *Otolaryngologic Clinics of North America*. – 2024. – Vol. 57, N 6. – P. 1083–1097. <https://doi.org/10.1016/j.otc.2024.07.012>
8. Late maxillary sinus graft infections due to peri-implantitis: case reports with histologic analysis / T. Testori, H. L. Wang, S. S. Wallace [et al.] // *International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*. – 2021. – Vol. 41, N 6. – P. 903–910. <https://doi.org/10.11607/prd.4558>
9. Использование препарата Цифран СТ в хирургической стоматологии для лечения и профилактики послеоперационных воспалительных осложнений / Л. А. Григорьянц, Л. Н. Герчиков, В. А. Бадалян [и др.] // *Стоматология для всех*. – 2006. – № 2. – С. 14–16.
10. Valentini, P. How to prevent and manage postoperative complications in maxillary sinus augmentation using the lateral approach: a review / P. Valentini // *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. – 2023. – Vol. 38, N 5. – P. 1005–1013. <https://doi.org/10.11607/jomi.10145>
11. Preoperative maxillary sinus imaging and the outcome of sinus floor augmentation and dental implants in asymptomatic patients / A. Ritter, N. Rozendorn, G. Avishai [et al.] // *Annals of Otolaryngology, Rhinology, and Laryngology*. – 2020. – Vol. 129, N 3. – P. 209–215. <https://doi.org/10.1177/0003489419883292>
12. How to avoid intraoperative and postoperative complications in maxillary sinus elevation / T. Testori, L. Tavelli, R. Scaini [et al.] // *Periodontology 2000*. – 2023. – Vol. 92, N 1. – P. 299–328. <https://doi.org/10.1111/prd.12480>
13. Alrmali, A. E. Dental pathophysiology of odontogenic sinusitis: oral surgical complications / A. E. Alrmali, H.-L. Wang // *Otolaryngologic Clinics of North America*. – 2024. – Vol. 57, N 6. – P. 977–989. <https://doi.org/10.1016/j.otc.2024.07.006>
14. Anatomical variations and abnormalities of the maxillary region and clinical implications: A systematic review and metaanalysis / J. J. Valenzuela-Fuenzalida, B. Baez-Flores, R. Á. Sepúlveda [et al.] // *Medicine (Baltimore)*. – 2023. – Vol. 102, N 38. – P. e34510. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000034510>
15. Anatomical variations of the nasal cavities and paranasal sinuses: a systematic review / A. M. Papadopoulou, D. Chrysikos, A. Samolis [et al.] // *Cureus*. – 2021. – Vol. 13, N 1. – P. e12727. <https://doi.org/10.7759/cureus.12727>
16. Maxillary dental anatomy and physiology: endodontic and periodontal / R. Ordinola-Zapata, B. Azevedo, R. W. Tatarzyn, M. A. Versiani // *Otolaryngologic Clinics of North America*. – 2024. – Vol. 57, N 6. – P. 927–939. <https://doi.org/10.1016/j.otc.2024.07.003>
17. Heitz-Mayfield, L. J. A. Peri-implant mucositis and peri-implantitis: key features and differences / L. J. A. Heitz-Mayfield // *British Dental Journal*. – 2024. – Vol. 236, N 10. – P. 791–794. <https://doi.org/10.1038/s41415-024-7402-z>

18. Association between maxillary sinus floor perforation by dental implants and mucosal thickening: a cone-beam computed tomography study / N. Oliveira-Santos, A. H. Beersingh, H. M. A. Felizardo [et al.] // *Journal of Dentistry*. – 2024. – Vol. 144. – Art. 104963. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2024.104963>
19. Kaya, A. T. Relationship between maxillary sinus mucosal cyst and sinus ostium 2D area in three-dimensional volumetric paranasal CT images / A. T. Kaya, L. Uğur // *Oral Radiology*. – 2024. – Vol. 40, N 2. – P. 199–206. <https://doi.org/10.1007/s11282-023-00722-6>
20. Репаративная регенерация тканей пародонта – результаты экспериментального исследования / Е. В. Щетинин, С. В. Сирак, Л. А. Григорьянц [и др.] // *Медицинский вестник Северного Кавказа*. – 2015. – Т. 10, № 4. – С. 411–415.
21. Рубникович, С. П. Регенеративные стоматологические технологии в комплексной хирургической и ортопедической реабилитации пациентов с дефектами зубных рядов / С. П. Рубникович, И. С. Хомич // *Стоматолог*. – 2020. – № 2. – С. 38–50.
22. Predicting odontogenic sinusitis in unilateral sinus disease: a prospective, multivariate analysis / V. K. Goyal, A. Ahmad, Z. Turfe [et al.] // *American Journal of Rhinology and Allergy*. – 2021. – Vol. 35, N 2. – P. 164–171. <https://doi.org/10.1177/1945892420941702>
23. Perforating dental implants and maxillary sinus pathology / T. Brandstaetter, O. Ziv, I. Sagy [et al.] // *Oral and Maxillofacial Surgery*. – 2024. – Vol. 28, N 2. – P. 715–721. <https://doi.org/10.1007/s10006-023-01198-8>
24. Histological, radiological, and clinical outcomes of sinus floor elevation using a lateral approach for pre-/post-extraction of the severely compromised maxillary molars: a study protocol for a randomized controlled trial / Z. Yue, Q. Liu, H. Zhang [et al.] // *Trials*. – 2021. – Vol. 22, N 1. – Art. 101. <https://doi.org/10.1186/s13063-021-05047-5>
25. Crestal approach for maxillary sinus augmentation in individuals with limited alveolar bone height: An observational study / S. Cho, E. J. Min, S. Hwa [et al.] // *Medicine (Baltimore)*. – 2024. – Vol. 103, N 43. – P. e40331. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000040331>

References

1. Mularczyk C., Welch K. Maxillary sinus anatomy and physiology. *Otolaryngologic Clinics of North America*, 2024, vol. 57, no. 6, pp. 991–1006. <https://doi.org/10.1016/j.otc.2024.07.004>
2. Hsu Y. T., Rosen P. S., Choksi K., Shih M.-C., Ninneman S., Lee C.-T. Complications of sinus floor elevation procedure and management strategies: a systematic review. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 2022, vol. 24, no. 6, pp. 740–765. <https://doi.org/10.1111/cid.13086>
3. Sala Y. M., Lu H., Chrcanovic B. R. Slinical outcomes of maxillary sinus floor perforation by dental implants and sinus membrane perforation during sinus augmentation: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Medicine*, 2024, vol. 13, no. 5, art. 1253. <https://doi.org/10.3390/jcm13051253>
4. Schiavo-Di Flaviano V., Egido-Moreno S., González-Navarro B., Velasco-Ortega E., López-López J., Monsalve-Guil L. Influence of schneiderian membrane perforation on implant survival rate: systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Medicine*, 2024, vol. 13, no. 13, art. 3751. <https://doi.org/10.3390/jcm13133751>
5. Douglas J. E., Patel T., Rullan-Oliver V., Ungerer H., Hinh L., Peterson E. L. [et al.]. Odontogenic sinusitis is a common cause of operative extra-sinus infectious complications. *American Journal of Rhinology and Allergy*, 2022, vol. 36, no. 6, p. 808–815. <https://doi.org/10.1177/19458924221114941>
6. Roccuzzo M., Mirra D., Roccuzzo A. Surgical treatment of peri-implantitis. *British Dental Journal*, 2024, vol. 236, no. 10, pp. 803–808. <https://doi.org/10.1038/s41415-024-7405-9>
7. Scaini R., Berzaghi A., Saibene A. M., Taschieri S. Dental evaluation: oral surgery-related complications. *Otolaryngologic Clinics of North America*, 2024, vol. 57, no. 6, pp. 1083–1097. <https://doi.org/10.1016/j.otc.2024.07.012>
8. Testori T., Wang H. L., Wallace S. S., Piattelli A., Iezzi G., Tavelli L., Tumedei M., Vinci R., Del Fabbro M. Late maxillary sinus graft infections due to peri-implantitis: case reports with histologic analysis. *International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 2021, vol. 41, no. 6, pp. 903–910. <https://doi.org/10.11607/prd.4558>
9. Grigor'yants L. A., Gerchikov L. N., Badalyan V. A., Sirak S. V., Grigor'yants A. G. Use of the drug Tsifran ST in surgical dentistry for the treatment and prevention of postoperative inflammatory complications. *Stomatologiya dlya vsekh* [Dentistry for all], 2006, no. 2, pp. 14–16 (in Russian).
10. Valentini P. How to prevent and manage postoperative complications in maxillary sinus augmentation using the lateral approach: a review. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 2023, vol. 38, no. 5, pp. 1005–1013. <https://doi.org/10.11607/jomi.10145>
11. Ritter A., Rozendorn N., Avishai G., Rosenfeld E., Koren I., Soudry E. Preoperative maxillary sinus imaging and the outcome of sinus floor augmentation and dental implants in asymptomatic patients. *Annals of Otolaryngology, Rhinology, and Laryngology*, 2020, vol. 129, no. 3, pp. 209–215. <https://doi.org/10.1177/0003489419883292>

12. Testori T., Tavelli L., Scaini R., Saibene A. M., Felisati G., Barootchi S. [et al.]. How to avoid intraoperative and postoperative complications in maxillary sinus elevation. *Periodontology* 2000, 2023, vol. 92, no. 1, pp. 299–328. <https://doi.org/10.1111/prd.12480>
13. Alrmali A. E., Wang H.-L. Dental pathophysiology of odontogenic sinusitis: oral surgical complications. *Otolaryngologic Clinics of North America*, 2024, vol. 57, no. 6, pp. 977–989. <https://doi.org/10.1016/j.otc.2024.07.006>
14. Valenzuela-Fuenzalida J. J., Baez-Flores B., Sepúlveda R. Á., Medina C. M., Pérez R., López E. [et al.]. Anatomical variations and abnormalities of the maxillary region and clinical implications: A systematic review and metaanalysis. *Medicine (Baltimore)*, 2023, vol. 102, no. 38, p. e34510. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000034510>
15. Papadopoulou A. M., Chrysikos D., Samolis A., Tsakotos G., Troupis T. Anatomical variations of the nasal cavities and paranasal sinuses: a systematic review. *Cureus*, 2021, vol. 13, no. 1, p. e12727. <https://doi.org/10.7759/cureus.12727>
16. Ordinola-Zapata R., Azevedo B., Tataryn R. W., Versiani M. A. Maxillary dental anatomy and physiology: endodontic and periodontal. *Otolaryngologic Clinics of North America*, 2024, vol. 57, no. 6, pp. 927–939. <https://doi.org/10.1016/j.otc.2024.07.003>
17. Heitz-Mayfield L. J. A. Peri-implant mucositis and peri-implantitis: key features and differences. *British Dental Journal*, 2024, vol. 236, no. 10, pp. 791–794. <https://doi.org/10.1038/s41415-024-7402-z>
18. Oliveira-Santos N., Beersingh A. H., Felizardo H. M. A., Groppo F. C., Gaêta-Araujo H. Association between maxillary sinus floor perforation by dental implants and mucosal thickening: a cone-beam computed tomography study. *Journal of Dentistry*, 2024, vol. 144, art. 104963. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2024.104963>
19. Kaya A. T., Uğur L. Relationship between maxillary sinus mucosal cyst and sinus ostium 2D area in three-dimensional volumetric paranasal CT images. *Oral Radiology*, 2024, vol. 40, no. 2, pp. 199–206. <https://doi.org/10.1007/s11282-023-00722-6>
20. Shchetinin E. V., Sirak S. V., Grigor'yants L. A., Vafiadi M. Yu., Dilekova O. V., Petrosyan G. G., Parazyan L. A., Gatilo Yu. Yu., Adamchik A. A. Reparative regeneration of periodontal tissues – results of an experimental study. *Meditsinskii vestnik Severnogo Kavkaza* [Medical bulletin of the North Caucasus], 2015, vol. 10, no. 4, pp. 411–415 (in Russian).
21. Rubnikovich S. P., Khomich I. S. Regenerative dental technologies in complex surgical and orthopedic rehabilitation of patients with dental defects. *Stomatolog* [Dentist], 2020, no. 2, pp. 38–50 (in Russian).
22. Goyal V. K., Ahmad A., Turfe Z., Peterson E. I., Craig J. R. Rredicting odontogenic sinusitis in unilateral sinus disease: a prospective, multivariate analysis. *American Journal of Rhinology and Allergy*, 2021, vol. 35, no. 2, pp. 164–171. <https://doi.org/10.1177/1945892420941702>
23. Brandstaetter T., Ziv O., Sagy I., Segal N., Schneider S., Givol N., Levin L., Zadik Y., Kordeluk S. Perforating dental implants and maxillary sinus pathology. *Oral and Maxillofacial Surgery*, 2024, vol. 28, no. 2, pp. 715–721. <https://doi.org/10.1007/s10006-023-01198-8>
24. Yue Z., Liu Q., Zhang H., Yang J., Hou J. Histological, radiological, and clinical outcomes of sinus floor elevation using a lateral approach for pre-/post-extraction of the severely compromised maxillary molars: a study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*, 2021, vol. 22, no. 1, art. 101. <https://doi.org/10.1186/s13063-021-05047-5>
25. Cho S., Min E. J., Hwa S., Lee H., Ko Y., Park J.-B. Crestal approach for maxillary sinus augmentation in individuals with limited alveolar bone height: An observational study. *Medicine (Baltimore)*, 2024, vol. 103, no. 43, p. e40331. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000040331>

Информация об авторах

Рубникович Сергей Петрович – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, ректор. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0002-7450-3757>. E-mail: rubnikovich@mail.ru

Сирак Сергей Владимирович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Ставропольский государственный медицинский университет (ул. Мира, 310, 355017, г. Ставрополь, Российская Федерация). <https://orcid.org/0000-0002-4924-5792>. E-mail: sergejsirak@yandex.ru

Гатило Ирина Анатольевна – канд. мед. наук, доцент, заведующий кафедрой. Ставропольский государственный медицинский университет (ул. Мира, 310, 355017,

Information about the authors

Sergey P. Rubnikovich – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, Rector. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0002-7450-3757>. E-mail: rubnikovich@mail.ru

Sergey V. Sirak – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Stavropol State Medical University (310, Mira Str., 355017, Stavropol, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0002-4924-5792>. E-mail: sergejsirak@yandex.ru

Irina A. Gatilo – Ph. D. (Med.), Associate Professor, Head of the Department. Stavropol State Medical University (310, Mira Str., 355017, Stavropol, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0001-7004-3581>.

г. Ставрополь, Российская Федерация). <https://orcid.org/0000-0003-0139-5094>. E-mail: chijgay@yandex.ru

Денисова Юлия Леонидовна – д-р мед. наук, профессор. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Держинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0003-0917-7972>. E-mail: denisova-yul@mail.ru

Сирак Александр Сергеевич – студент. Кубанский государственный медицинский университет (ул. Митрофана Седина, 4, 355063, г. Краснодар, Российская Федерация). <https://orcid.org/0009-0000-5545-5115>. E-mail: sanchoso672@mail.ru

Ленев Вадим Николаевич – канд. мед. наук, доцент. Ставропольский государственный медицинский университет (ул. Мира, 310, 355017, г. Ставрополь, Российская Федерация). <https://orcid.org/0009-0000-5738-5501>. E-mail: lenevstom@yandex.ru

Yuliya L. Denisova – D. Sc. (Med.), Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0003-0917-7972>. E-mail: denisova-yul@mail.ru

Alexander S. Sirak – student. Kuban State Medical University (4, Mitrofan Sedina Str., 355063, Krasnodar, Russian Federation). <https://orcid.org/0009-0000-5545-5115>. E-mail: sanchoso672@mail.ru

Vadim N. Lenev – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Stavropol State Medical University (310, Mira Str., 355017, Stavropol, Russian Federation). <https://orcid.org/0009-0000-5738-5501>

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК [611.12:616-089.843]:612.116.3:616-06:616.9:616-089.168.1

Поступила в редакцию 13.08.2025

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-4-304-313>

Received 13.08.2025

Н. П. Митьковская¹, Е. А. Григоренко^{1,2}, З. С. Супоненко^{1,2}, С. В. Кузьмич^{1,2},
Е. С. Третьяк¹, Д. В. Кудинова¹, Л. А. Васильева³, Л. О. Корнева³,
А. В. Валентюкевич¹, П. А. Федотов³

¹Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь²Республиканский научно-практический центр «Кардиология», Минск, Республика Беларусь³Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова,
Санкт-Петербург, Российская Федерация

РОЛЬ ПОЛОЖИТЕЛЬНОЙ КУЛЬТУРЫ ДОНОРСКОЙ КРОВИ В РАЗВИТИИ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У РЕЦИПИЕНТОВ СЕРДЕЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА В РАННЕМ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ

Аннотация. Целью исследования было оценить вероятность возникновения инфекционных осложнений (ИО) у реципиентов трансплантата сердца, полученного от доноров с положительной культурой крови, а также изучить микробиологический статус доноров и уровни биомаркеров воспаления и иммуноглобулинов. Актуальность работы определяется необходимостью повышения безопасности трансплантации сердца и минимизации риска ИО, являющихся одной из ведущих причин осложнений и летальности в раннем послеоперационном периоде.

Проведено одноцентровое ретроспективное исследование, в которое были включены данные 43 пациентов после ортотопических трансплантаций сердца (ОТС), выполненных в 2024 г. в Республиканском научно-практическом центре «Кардиология». Доноры и реципиенты были разделены на две группы по результатам бактериологических исследований крови. Анализ включал посевы крови на стерильность, образцов центрального венозного катетера (ЦВК) и тканей левого предсердия донорских сердец, а также определение уровней С-реактивного белка, прокальцитонина и иммуноглобулинов.

Согласно полученным данным, положительная культура крови доноров не ассоциировалась с повышением риска ИО у реципиентов в раннем послеоперационном периоде, не выявлено значимой связи между положительным посевом образца ЦВК и бактериемией у доноров, а также между положительной культурой крови и микроорганизмами, обнаруженными в донорском сердце. Чаще всего идентифицировали *S. epidermidis* и *A. baumannii*. В группе с положительной культурой крови установлены более высокие уровни IgA, чем в группе с отрицательной культурой крови, тогда как между уровнями других маркеров воспаления и иммуноглобулинов не выявлено достоверных различий. Полученные результаты обосновывают необходимость расширения выборки и дальнейшего изучения роли микробиологических и иммунологических факторов в развитии ИО у реципиентов трансплантата сердца.

Ключевые слова: хроническая сердечная недостаточность, ортотопическая трансплантация сердца, инфекционные осложнения, микробиологический статус, биологические маркеры воспаления, иммуноглобулины, скрининг донора, реципиент трансплантата сердца

Для цитирования: Роль положительной культуры донорской крови в развитии инфекционных осложнений у реципиентов сердечного трансплантата в раннем послеоперационном периоде / Н. П. Митьковская, Е. А. Григоренко, З. С. Супоненко [и др.] // Весті Національної академії наук України. Серія медичних наук. – 2025. – Т. 22, № 4. – С. 304–313. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-4-304-313>

Natalia P. Mitkovskaya¹, Elena A. Grigorenko^{1,2}, Zakhar S. Suponenka^{1,2}, Svetlana V. Kuzmich^{1,2},
Ekaterina S. Tratsyak¹, Daria V. Kudzinava¹, Larisa A. Vasilyeva³, Lyubov O. Korneva³,
Andrey V. Valentyukevich¹, Petr A. Fedotov³

¹Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus²Republican Scientific and Practical Centre “Cardiology”, Minsk, Republic of Belarus³Almazov National Medical Research Center, St. Petersburg, Russian Federation

ROLE OF POSITIVE DONOR BLOOD CULTURE IN THE DEVELOPMENT OF INFECTIOUS COMPLICATIONS IN HEART TRANSPLANT RECIPIENTS DURING THE EARLY POSTOPERATIVE PERIOD

Abstract. The aim of the study was to assess the likelihood of infectious complications (IC) in heart transplant (HTx) recipients receiving grafts from donors with a positive blood culture, as well as to evaluate the microbiological status of donors and the levels of inflammatory biomarkers and immunoglobulins. The study is relevant due to the need to improve heart transplantation safety and minimize the risk of IC, which remain one of the leading causes of postoperative complications and mortality in the early postoperative period.

A single-center retrospective study was conducted on 43 HTx procedures performed in 2024 at the Republican Scientific and Practical Center “Cardiology.” Donors and recipients were divided into two groups according to the results of donor blood bacteriological testing. The analysis included blood cultures for sterility, cultures from central venous catheter (CVC) samples, and left atrial tissue of donor hearts, as well as the determination of C-reactive protein, procalcitonin, and immunoglobulin levels.

According to the obtained data, a positive donor blood culture was not associated with an increased risk of IC in recipients during the early postoperative period. No significant association was found between positive CVC cultures and donor bacteremia, nor between positive donor blood cultures and the detection of microorganisms in donor heart tissue. The most frequently identified microorganisms were *S. epidermidis* and *A. baumannii*. Donors with positive blood cultures exhibited significantly higher IgA levels compared to those with negative blood cultures, while other inflammatory markers and immunoglobulins showed no statistically significant differences. The findings justify the need to expand the sample size and further investigate the role of microbiological and immunological factors in the development of IC in heart transplant recipients.

Keywords: chronic heart failure, orthotopic heart transplantation, infectious complications, microbiological status, inflammatory biomarkers, immunoglobulins, donor screening, heart transplant recipient

For citation: Mitkovskaya N. P., Grigorenko E. A., Suponenka Z. S., Kuzmich S. V., Tratsyak E. S., Kudzinava D. V., Vasilyeva L. A., Korneva L. O., Valentukevich A. V., Fedotov P. A. Role of positive donor blood culture in the development of infectious complications in heart transplant recipients during the early postoperative period. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk* = *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2025, vol. 22, no. 4, pp. 304–313 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-4-304-313>

Введение. Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) занимает лидирующие позиции среди причин смерти от сердечно-сосудистых заболеваний. По статистическим данным ряда независимых исследований, на сегодняшний день ХСН выявлена более чем у 63 млн человек во всем мире [1]. Несмотря на активное применение медикаментозной терапии, а также на разработку и внедрение высокотехнологичных методов лечения ХСН, таких как имплантируемые устройства ресинхронизирующей терапии (Cardiac resynchronization therapy, CRT) и механической поддержки кровообращения (Ventricular assist device, VAD), ортотопическая трансплантация сердца (ОТС) остается золотым стандартом лечения терминальной ХСН. Преимущественным отличием ОТС от других методов лечения данной патологии является не только увеличение продолжительности жизни, но и значительное улучшение ее качества, что подтверждается клиническими исследованиями по оценке качества жизни (HRQOL) [2]. Республика Беларусь, по данным Всемирной организации здравоохранения, входит в топ-50 стран по количеству органов трансплантаций на 1 млн населения. С 2009 г. в стране выполнено более 620 трансплантаций сердца, включая комплекс сердце–легкие.

ОТС – это высокотехнологичное хирургическое вмешательство, которое сопряжено с высоким риском развития многочисленных, в том числе жизнеугрожающих, осложнений на протяжении всего периоперационного периода. Доминирующие позиции среди причин смерти после ОТС занимают инфекционные осложнения (ИО). Их вклад в структуру послеоперационных осложнений у реципиентов трансплантата сердца составляет 30–50 %. Развитие большинства ИО ассоциировано со множественными модифицируемыми и немодифицируемыми факторами риска, наличие которых обусловлено как состоянием самого пациента, так и видом вмешательства, выбранным методом лечения, спецификой дальнейшей терапии. К числу установленных факторов риска развития ИО у реципиентов трансплантата сердца относятся пол, возраст, наличие сопутствующих хронических заболеваний, таких как сахарный диабет и хроническая обструктивная болезнь легких, предшествующая антибиотикотерапия, ранее проведенные хирургические вмешательства на сердце, использование VAD перед операцией, а также применение инотропной поддержки и/или искусственной вентиляции легких в предоперационный период [3]. В настоящее время проводится активная работа по изучению результатов предтрансплантационного скрининга, направленная прежде всего на выявление факторов риска ИО, которые ассоциированы с донорскими органами, а также с этапами эксплантации и транспортировки трансплантата сердца.

Несмотря на многочисленные изменения в критериях отбора, в настоящее время сохраняется тенденция к превышению числа ожидающих ОТС в сравнении с количеством донорских органов. По данным целого ряда независимых исследований, многие прогностически значимые факторы

риска, имеющиеся у доноров, далеко не всегда негативно влияют на результаты ОТС. Как правило, это следствие взаимодействия иных факторов риска, индивидуализированных в каждом конкретном случае. Долгое время положительная культура донорской крови считалась независимым прогностическим маркером инфицирования реципиента в послеоперационном периоде. Однако в настоящее время все чаще публикуются промежуточные данные о возможности использования трансплантата сердца от доноров с положительной культурой крови. Так, например, результаты недавнего ретроспективного исследования на основе базы данных Объединенной сети по совместному использованию органов США (United Network for Organ Sharing, UNOS, США) позволили сделать выводы о возможности применения донорских сердец с положительной культурой крови (Blood culture positive donors, BCPD). Это были тщательно отобранные случаи с обязательным исключением доноров с активной инфекцией. Результаты данного исследования указывают на отсутствие различий в краткосрочной выживаемости пациентов сравниваемых групп, а в скорректированных моделях некоторые показатели, указывающие на повышенный риск летального исхода и дисфункции трансплантата, в группе BCPD не достигли статистической значимости (рис. 1). Вместе с тем многие многоцентровые и регистровые клинические исследования еще не закончены. Публикуются их промежуточные выводы, которые требуют подтверждения [4].

Аналогичная ситуация постепенной трансформации научных взглядов уже имела место в истории трансплантологии. Так, в 1991 г. было установлено, что некоторые реципиенты трансплантата сердца были инфицированы вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) от ВИЧ-серонегативных доноров, что в 1994 г. стало катализатором для разработки соответствующих рекомендаций Центра по контролю и профилактике заболеваний в США (Centers for Disease Control and Prevention, CDC, США). Данные рекомендации стандартизировали серологическое тестирование доноров и определяли алгоритм, позволяющий классифицировать доноров в группу «высокого риска» последующего инфицирования реципиента трансплантата сердца. В 2004 г. UNOS, основываясь на критериях CDC, внедрила термин «высокий риск» инфицирования реципиента с целью расширения пула потенциальных доноров сердца. В 2013 г. рекомендации были пересмотрены и дополнены за счет включения возбудителей вирусных гепатитов В и С, что привело к замене термина «высокий риск» на термин «доноры повышенного риска» (Increased Risk Donors, IRD). Общее число доноров органов повышенного риска в общей когорте составляло около 10 %. Несмотря на проведенные исследования, продемонстрировавшие низкий риск передачи инфекционных заболеваний от IRD, врачи-специалисты продолжают проявлять осторож-

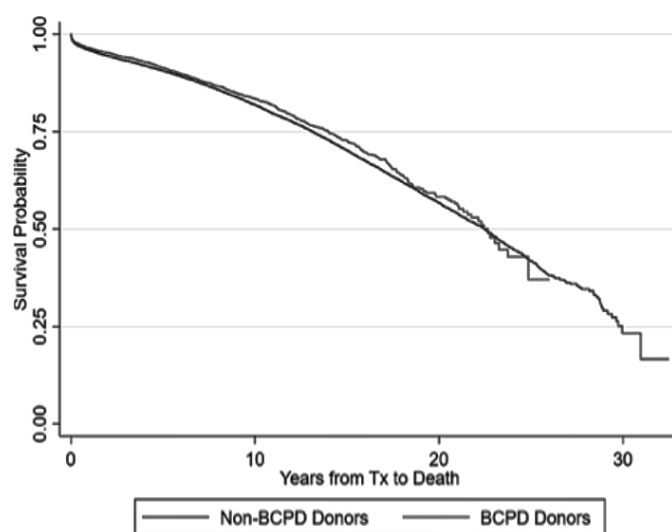


Рис. 1. Показатели выживаемости реципиентов донорских сердец с положительной культурой крови. Ретроспективное исследование UNOS с сентября 1987 г. по март 2021 г. [4]

Fig. 1. Survival rates of donor heart recipients with positive blood culture. UNOS retrospective study from September 1987 to March 2021 [4]

ность в отношении использования органов от таких доноров. Это связано с опасениями по поводу потенциального риска передачи инфекций и с недостаточной информированностью о долгосрочных последствиях использования органов от доноров повышенного риска. В результате, несмотря на наличие научных данных, подтверждающих безопасность таких трансплантаций, существует необходимость дальнейшего изучения данной проблемы и разработки стратегий для повышения доверия к использованию органов от IRD [5].

В январе 2023 г. были обновлены рекомендации Международного общества по трансплантации сердца и легких (International Society for Heart and Lung Transplantation, ISHLT) относительно выбора трансплантата сердца и предтрансплантационного скрининга доноров. Рекомендации были разработаны международной группой экспертов на основе обширного анализа существующих данных. Спорные вопросы обсуждались последовательно, при этом предоставленная современная информация способствовала оценке рисков, а важность каждой рекомендации и соответствующий уровень имеющихся доказательств были классифицированы в соответствии с протоколом ISHLT. Таким образом, на текущий момент использование органов от доноров с бактериемией (уровень доказательности C, класс IIa) возможно лишь при условии информирования реципиента о связанных с этим рисках и назначения таргетной антимикробной терапии в послеоперационном периоде [6, 7]. Уровень и класс доказательности представленной рекомендации указывают на необходимость проведения дальнейших исследований для подтверждения полученных выводов и оценки безопасности подобной практики.

Показатели смертности в сфере трансплантологии демонстрируют значительные различия на глобальном уровне, что зачастую можно объяснить выбором доноров и уровнем срочности трансплантационного вмешательства. Поиск оптимального баланса между увеличением числа трансплантаций (это может быть связано с определенными рисками) и минимизацией потенциальных угроз для реципиентов представляет собой сложную задачу [8]. Проблемным является вопрос о продолжительности ожидания результатов исследования. Например, сроки получения результатов бактериологического исследования могут варьироваться от 2 до 14 дней, что зависит от типа исследования и специфики работы клинической лаборатории. В частности, посевы на микрофлору, как правило, требуют от 3 до 5 дней для получения окончательных результатов, а анализы на определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам могут занимать от 2 до 7 дней. При этом периоперационный хирургический риск является результатом взаимодействия множества других факторов, включая характеристики донора, состояние реципиента, продолжительность ишемии донорского органа и многое другое [9]. Анализ всех факторов, влияющих на исход ОТС, а также междисциплинарный индивидуализированный подход к проведению данного вмешательства являются основой для разработки стационарспецифичных моделей стратификации риска, оставаясь перспективным направлением современных научных исследований [7, 10, 11].

Цель исследования – оценить вероятность возникновения инфекционных осложнений у реципиентов, получивших трансплантат сердца от доноров с положительной культурой крови в раннем послеоперационном периоде, а также микробиологический статус донора, уровни биологических маркеров воспаления и иммуноглобулинов.

Материалы и методы исследования. На базе государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр «Кардиология» Министерства здравоохранения Республики Беларусь в период с 01.01.2024 по 31.12.2024 г. было выполнено 43 ОТС. В исследование были включены доноры и реципиенты трансплантата сердца старше 18 и младше 65 лет с терминальной ХСН, в том числе с имплантированными устройствами VAD. Критериями исключения являлись острые инфекционные заболевания (сепсис, туберкулез, лихорадка неясной этиологии, острые формы гепатитов В, С и др.), инфицированность ВИЧ, а также перенесенная реципиентом инфаркт-пневмония в последние 6–8 недель до ОТС.

В рамках данного исследования дана ретроспективная оценка показателей предтрансплантационного скрининга доноров. Включенные в анализ параметры охватывали бактериологические исследования крови, в том числе посевы крови на стерильность, посевы образцов ЦВК и участков ткани левого предсердия донорских сердец. Проведена оценка уровней биологических мар-

керов воспаления, таких как прокальцитонин (ПКТ) и С-реактивный белок (СРБ), а также иммуноглобулинов (IgA, IgM, IgG) в сыворотке крови доноров на момент забора трансплантата сердца.

Выделены две группы исследования: доноры с положительными результатами бактериологических анализов крови (**Группа 1**) с соответствующими им реципиентами трансплантата сердца и доноры с отрицательными результатами бактериологического исследования крови (**Группа 2**) с соответствующими им реципиентами. Особое внимание уделялось оценке развития ИО у реципиентов трансплантата сердца в раннем послеоперационном периоде и поиску взаимосвязи их возникновения с наличием положительной культуры донорской крови.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программных пакетов SAS (Statistic Analysis System) и IBM SPSS Statistics. Для большинства категориальных данных и количественных переменных распределение не соответствовало нормальному, поэтому результаты оценивали с помощью непараметрических методов. Количественные значения исследуемых параметров в результате описательной статистической обработки представляли в виде медианы, а также 25-го и 75-го процентилей – Me (LQ; UQ), показатели инференциальной статистической обработки – в виде Z-статистики. Для анализа категориальных данных и определения связи между исследуемыми показателями использовали критерий хи-квадрат (χ^2). Значение $p < 0,05$ считали статистически значимым. Интервальную оценку статистических параметров осуществляли путем определения относительного риска (ОР) и доверительного интервала (ДИ).

Результаты и их обсуждение. Установлено, что положительная культура донорской крови не являлась фактором риска развития ИО в раннем послеоперационном периоде у реципиентов трансплантата сердца, включенных в исследование (ОР = 0,81; 95 % ДИ: 0,34–1,96; $\chi^2 = 0,818$; $p = 0,366$) (рис. 2, 3).

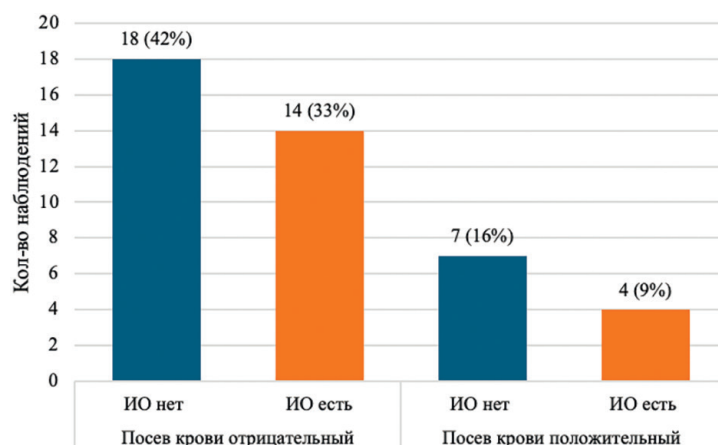


Рис. 2. Распространенность инфекционных осложнений у реципиентов в раннем послеоперационном периоде в зависимости от результатов бактериологического исследования крови доноров трансплантата сердца

Fig. 2. Prevalence of infectious complications in recipients in the early postoperative period depending on the results of bacteriological examination of the blood of heart transplant donors

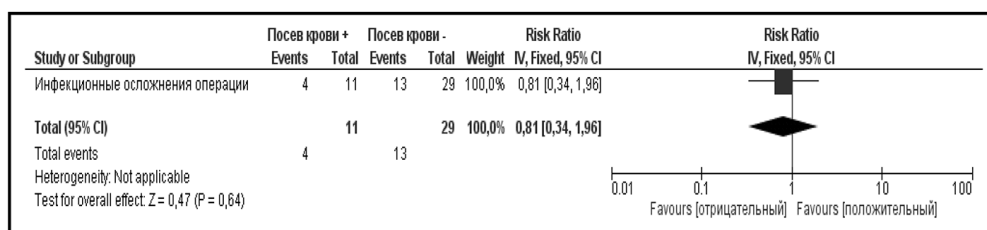


Рис. 3. Влияние положительной культуры крови доноров трансплантата сердца на развитие инфекционных осложнений у реципиентов в раннем послеоперационном периоде

Fig. 3. Influence of positive blood culture of heart transplant donors on the development of infectious complications in recipients in the early postoperative period

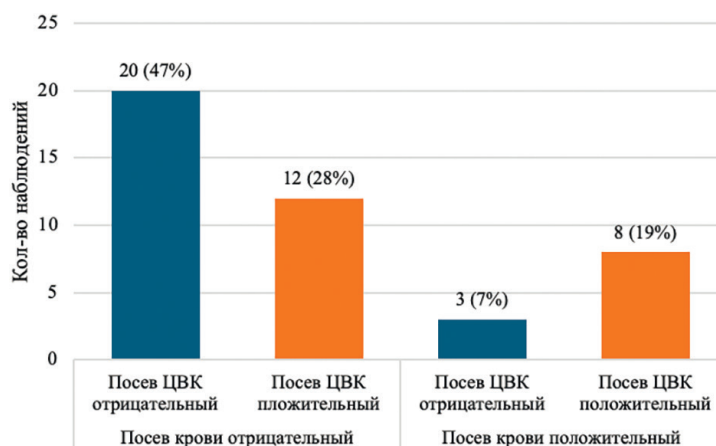


Рис. 4. Результаты бактериологического исследования образцов ЦВК и посевов донорской крови

Fig. 4. Results of bacteriological examination of the CVC sample and donor blood cultures

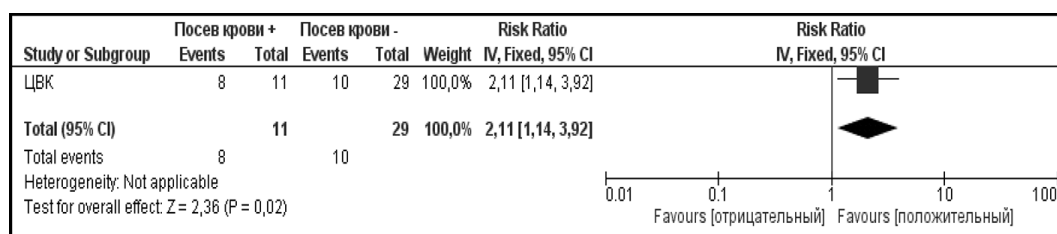


Рис. 5. Влияние положительного посева образцов ЦВК на развитие бактериемии у донора трансплантата сердца

Fig. 5. Effect of positive culture of CVC samples on the development of bacteremia in a heart transplant donor

Не установлено увеличения риска развития бактериемии донора при положительном посеве образцов ЦВК, что требует расширения объема выборки исследуемой группы для подтверждения либо опровержения полученных результатов ($OR = 2,11$; 95 % ДИ: 1,14–3,92; $\chi^2 = 2,273$; $p = 0,132$) (рис. 4, 5).

Выявлено, что положительная культура донорской крови не увеличивает риск обнаружения микроорганизмов в участке донорского сердца ($OR = 0,70$; 95 % ДИ: 0,30–1,66; $\chi^2 = 0,818$; $p = 0,366$) (рис. 6, 7).

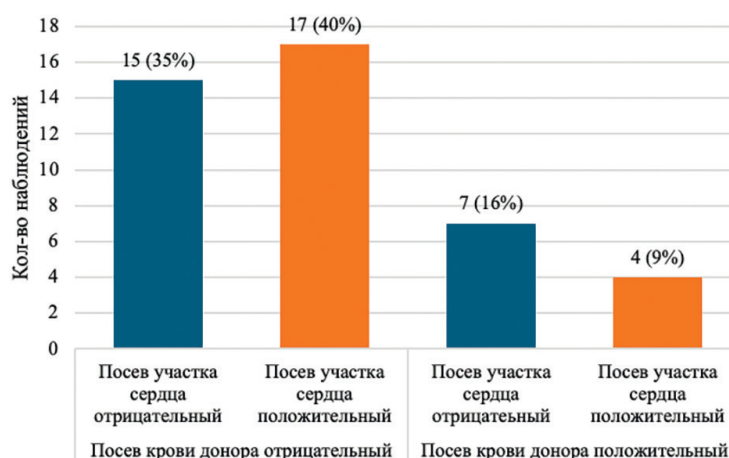


Рис. 6. Результаты бактериологического исследования участка донорского сердца и посевов крови донора

Fig. 6. Results of bacteriological examination of the donor heart sample and donor blood cultures

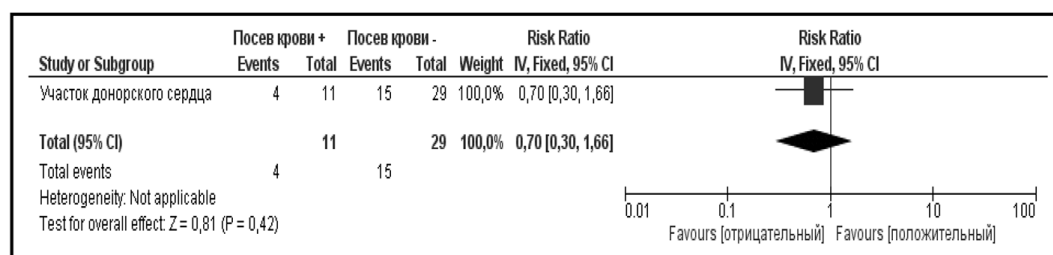


Рис. 7. Влияние положительной культуры донорской крови на обнаружение микроорганизмов в участке донорского сердца

Fig. 7. Effect of positive donor blood culture on detection of microorganisms in the donor heart site

В 21 (48,8 %) случае при микробиологических исследованиях участков ткани левого предсердия донорских сердец наблюдался рост числа микроорганизмов. Всего было идентифицировано 6 видов микроорганизмов, из которых 3 (85,7 %) встречались наиболее часто: *S. epidermidis* – 10 (47,6 %) случаев, *K. pneumoniae* – 5 (23,8 %), *A. baumannii* – 3 (14,2 %) случая. Другие микроорганизмы (*S. saprophyticus*, *E. coli*, *Corynebacterium* sp.) были обнаружены в единичных образцах.

Бактериологические исследования образцов ЦВК донора в 20 (46,5%) случаях выявили рост числа микроорганизмов. Всего было идентифицировано 5 видов микроорганизмов, из которых 2 (85 %) встречались наиболее часто: *S. epidermidis* – 9 (45 %) случаев, *A. baumannii* – 8 (40 %). Иные микроорганизмы (*K. pneumoniae*, *E. coli*, *S. haemolyticus*) встречались в единичных образцах.

Анализ посевов крови донора на стерильность показал рост числа микроорганизмов в 11 (25,5 %) случаях. Всего было идентифицировано 5 видов микроорганизмов, из которых 3 (81,1%) встречались наиболее часто: *A. baumannii* – 5 (45,5 %) случаев, *S. epidermidis* – 2 (18,2 %), *S. haemolyticus* – 2 (18,2 %). Иные микроорганизмы (*K. pneumoniae*, *S. hominis*) встречались в единичных образцах.

Выявлены более высокие показатели IgA в **Группе 1** (положительная культура донорской крови) в сравнении с **Группой 2** (отрицательная культура донорской крови) – 2,82 (2,37–3,67) и 1,93 (1,53–2,48) г/л соответственно ($p = 0,016$, $Z = 2,392$). Достоверных различий в показателях ПКТ, СРБ, IgM и IgG не установлено (таблица, рис. 8).

Показатели биологических маркеров воспаления и иммуноглобулинов донора трансплантата сердца

Indicators of biological markers of inflammation and immunoglobulins in a heart transplant donor

Показатель	Доноры с положительной культурой крови (n = 11)	Доноры с отрицательной культурой крови (n = 32)	p, Z
СРБ, мг/л	130,5 (39,1–258,2)	144,65 (68,4–303,7)	p = 0,467, Z = -0,726
ПКТ, нг/мл	1,09 (0,42–2,28)	0,75 (0,12–2,08)	p = 0,351, Z = 0,917
IgA, г/л	2,82 (2,37–3,67)	1,93 (1,53–2,48)	p = 0,016*, Z = 2,392
IgM, г/л	0,98 (0,6–1,4)	0,74 (0,56–1,32)	p = 0,704, Z = 0,378
IgG, г/л	8,83 (6,19–10,13)	6,85 (4,86–7,98)	p = 0,052, Z = 1,938

Примечание. Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей – Ме (Q25; Q75); * – статистически значимое различие показателей между группами ($p < 0,05$).

Результаты проведенного одноцентрового исследования не продемонстрировали повышения риска ИО в группе реципиентов с положительной культурой донорской крови, что обосновывает необходимость проведения дальнейших исследований для определения роли положительной культуры донорской крови как потенциального фактора риска ИО у реципиентов трансплантата сердца в раннем послеоперационном периоде.

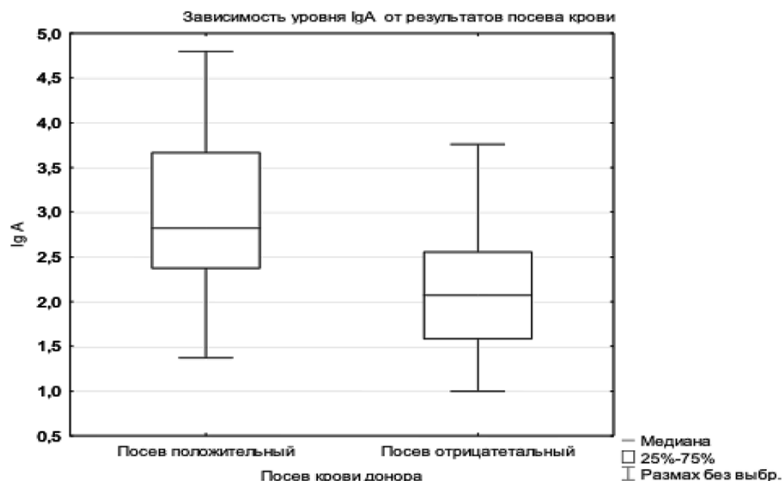


Рис. 8. Уровни IgA в крови доноров исследуемых групп

Fig. 8. IgA levels in the blood of donors of the studied groups

Дополнительно был оценен риск бактериемии у доноров, имевших положительный посев образца ЦВК. Полученные значения, которые бы указывали на увеличение риска бактериемии у данной категории доноров, не достигли уровня статистической значимости. Это подчеркивает важность увеличения объема выборки для обоснованной оценки связи между представленными факторами. Кроме того, исследование выявило отсутствие значимого риска обнаружения микроорганизмов в донорском сердце при наличии положительной культуры донорской крови.

Микробиологические исследования тканей донорских сердец и образцов ЦВК позволили установить видовое разнообразие микроорганизмов, среди которых наиболее часто встречались *Staphylococcus epidermidis* и *Acinetobacter baumannii*. В группе с положительной культурой донорской крови были зарегистрированы значительно более высокие уровни IgA, чем в группе с отрицательной культурой, в отличие от других исследованных маркеров воспаления и иммуноглобулинов, которые не продемонстрировали достоверных межгрупповых различий.

Таким образом, полученные данные указывают на необходимость тщательного мониторинга факторов риска инфекционных осложнений у реципиентов трансплантата сердца. Несмотря на отсутствие статистически значимых различий в рамках данного исследования, его результаты могут служить обоснованием необходимости увеличения объема выборки и более детального анализа потенциальных факторов риска. Настоящее исследование подчеркивает перспективность направления, связанного с иммунологией критических состояний, а также необходимость изучения связи иммунного статуса доноров и реципиентов с риском инфекционных осложнений и общими исходами трансплантации.

Выводы

1. Положительная культура донорской крови не являлась значимым фактором риска развития инфекционных осложнений у реципиентов трансплантированного сердца в раннем послеоперационном периоде.

2. Положительный посев образцов ЦВК доноров не влиял на риск выявления у них бактериемии. Вероятность обнаружения микроорганизмов в участке донорского сердца при положительной культуре донорской крови отсутствовала.

4. В тканях донорских сердец и образцах ЦВК наиболее часто обнаруживались два вида микроорганизмов – *S. epidermidis* и *A. baumannii*.

5. У доноров с положительной гемокультурой выявлены более высокие уровни IgA, чем у лиц с отрицательными посевами крови.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Global burden of heart failure: a comprehensive and updated review of epidemiology / G. Savarese, P. Becher, L. Lund [et al.] // *Cardiovascular Research*. – 2023. – Vol. 118, N 17. – P. 3272–3287. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvac013>
2. Декомпенсация хронической сердечной недостаточности: новый взгляд на проблему в свете обновленного консенсуса экспертов Европейского общества кардиологов / В. Н. Ларина, В. А. Кокорин, В. Г. Ларин [и др.] // *Российский кардиологический журнал*. – 2023. – Т. 28, № 12. – С. 142–153. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2023-5581>
3. Инфекционные осложнения после ортотопической трансплантации сердца: текущее состояние и перспективы / З. С. Супоненко, У. Г. Якушева, А. М. Трошина [и др.] // *Кардиология в Беларуси*. – 2024. – Т. 16, № 4. – С. 344–360.
4. Positive donor blood cultures are not associated with worse heart transplant survival / U. Siddiqi, D. Blitzer, S. Lirette [et al.] // *Clinical Transplantation*. – 2023. – Vol. 37, N 8. – P. e14994. <https://doi.org/10.1111/ctr.14994>
5. Cardiac transplantation with increased-risk donors: Trends and clinical outcomes / A. Manjunath, J. Maning, W. Tingquing [et al.] // *International Journal of Cardiology*. – 2025. – Vol. 421. – P. 132887. <https://doi.org/10.2139/ssrn.4823926>
6. Donor heart selection: Evidence-based guidelines for providers / H. Copeland, I. Knezevic, D. Baran [et al.] // *Journal of Heart and Lung Transplantation*. – 2023. – Vol. 42, N 1. – P. 7–29. <https://doi.org/10.1016/j.healun.2022.08.030>
7. Donor selection for heart transplantation in 2025 / R. Jain, E. Kransdorf, J. Cowger [et al.] // *JACC Heart Failure*. – 2025. – Vol. 13, N 3. – P. 389–401. <https://doi.org/10.1016/j.jchf.2024.09.016>
8. Donor blood cultures and outcomes after lung transplantation: a single-center report / M. Hashim, R. Saleh, R. Abdulqawi [et al.] // *Transplant Infectious Disease*. – 2024. – Vol. 26, N 2. – P. e14224. <https://doi.org/10.1111/tid.14224>
9. Larsson, D. Antibiotic resistance in the environment / D. Larsson, C. Flach // *Nature Reviews Microbiology*. – 2022. – Vol. 20, N 5. – P. 257–269. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00649-x>
10. The importance of donor blood culture in heart transplant patients: A case report / C. Sarikas, H. Arslan, T. Akay [et al.] // *Transplantation*. – 2024. – Vol. 13, N 9S. <https://doi.org/10.1097/01.tp.0001067116.86002.39>
11. The tell-tale hearts: Donor-derived invasive fungal infections among orthotopic heart transplant recipients / J. Krishnan, M. Carugati, R. Miller [et al.] // *Medical Mycology Case Reports*. – 2025. – Vol. 48. – P. 100702. <https://doi.org/10.1016/j.mmcr.2025.100702>

References

1. Savarese G., Becher P., Lund L., Seferovic P., Rosano G. M. C., Coats A. J. S. Global burden of heart failure: a comprehensive and updated review of epidemiology. *Cardiovascular Research*, 2023, vol. 118, no. 17, pp. 3272–3287. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvac013>
2. Larina V. N., Kokorin V. A., Larin V. G., Lunev V. I., Suvorova N. A., Skiba I. K., Shcherbina E. S. Decompensated heart failure: a reconceptualization in the light of updated consensus statement of the European Society of Cardiology. *Rossiiskii kardiologicheskii zhurnal* [Russian journal of cardiology], 2023, vol. 28, no. 12, pp. 142–153 (in Russian). <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2023-5581>
3. Suponenka Z., Yakusheva U. G., Troshina A. M., Mishchanchuk E. A., Rogovsky E. A., Valentyukevich A. V., Grigorenko E. A., Mitkovskaya N. P. Infectious complications after orthotopic heart transplantation: current state and prospects. *Kardiologiya v Belarusi* [Cardiology in Belarus], 2024, vol. 16, no. 4, pp. 344–360 (in Russian). <https://doi.org/10.34883/Pl.2024.16.4.008>
4. Siddiqi U., Blitzer D., Lirette S., Patel A., Hoang R., Mohammed A., Copeland J., Baran D. A., Copeland H. Positive donor blood cultures are not associated with worse heart transplant survival. *Clinical Transplantation*, 2023, vol. 37, no. 8, p. e14994. <https://doi.org/10.1111/ctr.14994>
5. Manjunath A., Maning J., Tingquing W., Bryner B., Harap R., Ghafourian K. [et al.]. Cardiac transplantation with increased-risk donors: Trends and clinical outcomes. *International Journal of Cardiology*, 2025, vol. 421, p. 132887. <https://doi.org/10.2139/ssrn.4823926>
6. Copeland H., Knezevic I., Baran D., Rao V., Pham M., Gustafsson F. [et al.]. Donor heart selection: Evidence-based guidelines for providers. *Journal of Heart and Lung Transplantation*, 2023, vol. 42, no. 1, pp. 7–29. <https://doi.org/10.1016/j.healun.2022.08.030>
7. Jain R., Kransdorf E., Cowger J., Jeevanandam V., Kobashigawa J. A. Donor selection for heart transplantation in 2025. *JACC Heart Failure*, 2025, vol. 13, no. 3, pp. 389–401. <https://doi.org/10.1016/j.jchf.2024.09.016>
8. Hashim M., Saleh R., Abdulqawi R., Albachir C. A., Aldakhil H., AlKattan K. M., Almaghrabi R. S., Hamad A., Saleh W., Al-Mutairy E. A. Donor blood cultures and outcomes after lung transplantation: a single-center report. *Transplant Infectious Disease*, 2024, vol. 26, no. 2, p. e14224. <https://doi.org/10.1111/tid.14224>
9. Larsson D., Flach C. Antibiotic resistance in the environment. *Nature Reviews Microbiology*, 2022, vol. 20, no. 5, pp. 257–269. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00649-x>
10. Sarikas C., Arslan H., Akay T., Sezgin A., Haberal M. A. The importance of donor blood culture in heart transplant patients: A case report. *Transplantation*, 2024, vol. 108, no. 9S. <https://doi.org/10.1097/01.tp.0001067116.86002.39>
11. Krishnan J., Carugati M., Miller R., Wolfe C. R., Perfect J. R., Messina J. A. The tell-tale hearts: Donor-derived invasive fungal infections among orthotopic heart transplant recipients. *Medical Mycology Case Reports*, 2025, vol. 48, p. 100702. <https://doi.org/10.1016/j.mmcr.2025.100702>

Информация об авторах

Митьковская Наталья Павловна – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр-т Дзержинского, 83, 220083, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0002-9088-721X>. E-mail: mitkovskaya1@mail.ru

Григоренко Елена Александровна – д-р мед. наук, доцент, заместитель директора, Республиканский научно-практический центр «Кардиология» (ул. Р. Люксембург, 110Б, 220036, г. Минск, Республика Беларусь); профессор кафедры кардиологии и внутренних болезней, Белорусский государственный медицинский университет (пр-т Дзержинского, 83, 220083, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0002-8120-6267>. E-mail: alegri@tut.by

Супоненко Захар Сергеевич – аспирант, Республиканский научно-практический центр «Кардиология» (ул. Р. Люксембург, 110Б, 220036, г. Минск, Республика Беларусь); ассистент кафедры кардиологии и внутренних болезней, Белорусский государственный медицинский университет (пр-т Дзержинского, 83, 220083, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: z_s_2020@list.ru

Кузьмич Светлана Владимировна – врач-лаборант, Республиканский научно-практический центр «Кардиология» (ул. Р. Люксембург, 110Б, 220036, г. Минск, Республика Беларусь); аспирант кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, Белорусский государственный медицинский университет (пр-т Дзержинского, 83, 220083, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: sveta-kuzmich@tut.by

Третьяк Екатерина Станиславовна – врач-лаборант. Республиканский научно-практический центр «Кардиология» (ул. Р. Люксембург, 110Б, 220036, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: tretiak_k@mail.ru

Кудинова Дарья Викторовна – фельдшер-лаборант. Республиканский научно-практический центр «Кардиология» (ул. Р. Люксембург, 110Б, 220036, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: Dashka17055@gmail.com

Васильева Лариса Александровна – лаборант-исследователь, Институт сердца и сосудов; врач-кардиолог отделения кардиологии № 8, Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова (ул. Аккуратова, 2, 2197341, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация). <https://orcid.org/0000-0002-7116-143X>. E-mail: lara.seagull123@gmail.com

Корнева Любовь Олеговна – мл. науч. сотрудник, Институт сердца и сосудов; врач-кардиолог отделения кардиологии № 8, Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова (ул. Аккуратова, 2, 2197341, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация). <https://orcid.org/0000-0002-6503-0310>. E-mail: ljubovkornewa@yandex.ru

Валентюкевич Андрей Валентинович – руководитель отдела анестезиологии и реанимации. Республиканский научно-практический центр «Кардиология» (ул. Р. Люксембург, 110Б, 220036, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: a.v.valentyukevich@cardio.by

Федотов Петр Алексеевич – канд. мед. наук, вед. науч. сотрудник, заведующий лабораторией. Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова (ул. Аккуратова, 2, 2197341, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация). <https://orcid.org/0000-0002-7452-1971>. E-mail: drheart@mail.ru

Information about the authors

Natalia P. Mitkovskaya – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220083, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0002-9088-721X>. E-mail: mitkovskaya1@mail.ru

Elena A. Grigorenko – D. Sc. (Med.), Associate Professor, Deputy Director, Republican Scientific and Practical Center “Cardiology” (110B, R. Luxemburg Str., 220036, Minsk, Republic of Belarus); Professor, Department of Cardiology and Internal Diseases, Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220083, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0002-8120-6267>. E-mail: alegri@tut.by

Zakhar S. Suponenka – Postgraduate student, Republican Scientific and Practical Center “Cardiology” (110B, R. Luxemburg Str., 220036, Minsk, Republic of Belarus); Assistant, Department of Cardiology and Internal Diseases, Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220083, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: z_s_2020@list.ru

Svetlana V. Kuzmich – Laboratory Physician, Republican Scientific and Practical Center “Cardiology” (110B, R. Luxemburg Str., 220036, Minsk, Republic of Belarus); Postgraduate student, Department of Microbiology, Virology, and Immunology, Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220083, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: svetakuzmich@tut.by

Ekaterina S. Tratsyak – Laboratory Physician. Republican Scientific and Practical Center “Cardiology” (110B, R. Luxemburg Str., 220036, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tretiak_k@mail.ru

Daria V. Kudzinava – Feldsher-Laboratory Assistant. Republican Scientific and Practical Center “Cardiology” (110B, R. Luxemburg Str., 220036, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: Dashka17055@gmail.com

Larisa A. Vasilyeva – Research Assistant, Institute of Heart and Vessels; Cardiologist, Cardiology Department No. 8, Almazov National Medical Research Centre (2, Akkuratov Str., 2197341, St. Petersburg, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0002-7116-143X>. E-mail: lara.seagull123@gmail.com

Lyubov O. Korneva – Junior Researcher, Institute of Heart and Vessels; Cardiologist, Cardiology Department No. 8, Almazov National Medical Research Centre (2, Akkuratov Str., 2197341, St. Petersburg, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0002-6503-0310>. E-mail: ljubovkornewa@yandex.ru

Andrey V. Valentyukevich – Head of the Department of Anesthesiology and Intensive Care. Republican Scientific and Practical Center “Cardiology” (110B, R. Luxemburg Str., 220036, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: a.v.valentyukevich@cardio.by

Petr A. Fedotov – Ph. D. (Med.), Leading Researcher, Head of the Laboratory. Institute of Medical Education of the Almazov National Medical Research Centre (2, Akkuratov Str., 2197341, St. Petersburg, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0002-7452-1971>. E-mail: drheart@mail.ru

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.24-006.6-07:577.21.088

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-4-314-323>

Поступила в редакцию 02.06.2025

Received 02.06.2025

**С. Ю. Смирнов, А. В. Медведь, С. Н. Пивоварчик, Т. Г. Вахомчик,
П. Е. Короткевич, Е. И. Субоч, А. С. Портянко**

*Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии
имени Н. Н. Александрова, а/г Лесной, Минский район, Республика Беларусь*

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ДЕТЕКЦИИ цодНК У ПАЦИЕНТОВ С НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАРКЕРА МЕТИЛИРОВАНИЯ *RASSF1*

Аннотация. На основании информации из международной базы данных The Cancer Genome Atlas оценен статус метилирования промотора гена *RASSF1* в 57 образцах опухолевой ткани (аденокарцинома и плоскоклеточный рак) и 27 образцах нормальной ткани легкого. Установлены области промотора, характеризующиеся специфичным профилем метилирования при немелкоклеточном раке легкого, включая его различные гистологические формы.

В рамках проведенного исследования осуществлен дизайн праймеров для метил-специфичной ПЦР, с помощью которой подтверждена возможность использования маркера *RASSF1* для детекции опухолевой ДНК. Разработана методика детекции циркулирующей опухолевой ДНК в плазме крови пациентов с немелкоклеточным раком легкого с помощью цифровой капельной ПЦР.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, цодНК, *RASSF1*, метилирование, цифровая капельная ПЦР

Для цитирования: Разработка метода детекции цодНК у пациентов с немелкоклеточным раком легкого с использованием маркера метилирования *RASSF1* / С. Ю. Смирнов, А. В. Медведь, С. Н. Пивоварчик [и др.] // Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Сэрыя медыцынскіх навук. – 2025. – Т. 22, № 4. – С. 314–323. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-4-314-323>

**Siarhei Y. Smirnou, Antonina V. Miadzvedz, Siarhei N. Pivavarchyk, Tatsiana G. Vakhomchyk,
Pavel E. Karatkevich, Helen I. Subach, Anna S. Portyanko**

*N. N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus,
Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus*

DEVELOPMENT OF A METHOD FOR DETECTING ctDNA IN PATIENTS WITH NON-SMALL CELL LUNG CANCER USING THE *RASSF1* METHYLATION MARKER

Abstract. Based on information from the international database The Cancer Genome Atlas, the methylation status of the *RASSF1* gene promoter was studied in 57 non-small cell lung cancer tissue samples (adenocarcinoma and squamous cell lung carcinoma) and 27 normal lung tissue samples. Promoter regions characterized by specific methylation profiles in non-small cell lung cancer, including various histological types, were identified.

The obtained data was then used to design primers for methylation-specific PCR, thereby confirming the feasibility of using the *RASSF1* marker for tumor DNA detection. A methodology for detecting ctDNA in the blood plasma of patients with non-small cell lung cancer was developed using droplet digital PCR.

Keywords: non-small cell lung cancer, ctDNA, *RASSF1*, methylation, droplet digital PCR

For citation: Smirnou S. Y., Miadzvedz A. V., Pivavarchyk S. N., Vakhomchyk T. G., Karatkevich P. E., Subach H. I., Portyanko A. S. Development of a method for detecting ctDNA in patients with non-small cell lung cancer using the *RASSF1* methylation marker. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2025, vol. 22, no. 4, pp. 314–323 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-4-314-323>

Введение. Рак легкого остается одной из ведущих причин смерти от онкозаболеваний во всем мире, что определяет высокую актуальность научных исследований по поиску новых биомаркеров для ранней диагностики и мониторинга течения данного заболевания, а также молекулярно-генетических терапевтических мишеней. Одним из таких маркеров является ген *RASSF1*. Аберрантное метилирование промотора гена *RASSF1* является важным эпигенетическим изменением в канцерогенезе различных онкозаболеваний, в том числе и немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) [1].

Ген *RASSF1* расположен на коротком плече 3-й хромосомы (3p21.3) и имеет несколько изоформ, наиболее исследованной из которых является *RASSF1A*. Белок *RASSF1A*, являющийся важным опухолевым супрессором, участвует в регуляции клеточного цикла и апоптоза [2]. При раке легких потеря экспрессии *RASSF1* в основном связана с метилированием его промоторной области, что приводит к «молчанию» гена и способствует росту опухоли. Исследования показали, что метилирование промотора *RASSF1* при данном заболевании встречается примерно в 44 % случаев [3]. Данное молекулярное нарушение часто обнаруживается уже на ранних стадиях НМРЛ, что свидетельствует о его потенциальной ценности как биомаркера ранней диагностики.

Анализ циркулирующей опухолевой ДНК (цоДНК) с использованием в качестве опухолевоспецифичного маркера метилирования промотора *RASSF1* продемонстрировал высокую эффективность последнего в научных исследованиях по диагностике рака легких и мониторингу течения различных онкозаболеваний [4, 5].

Согласно литературным данным, метилирование промоторной области гена *RASSF1* также связано с прогнозом заболевания при НМРЛ – пациенты с aberrантным метилированием гена имеют более низкие показатели общей выживаемости [6]. Изучение биологических механизмов, лежащих в основе дисрегуляции *RASSF1*, будет способствовать разработке новых терапевтических стратегий, нацеленных на эпигенетические aberrации при раке легкого.

Однако, несмотря на многообещающие результаты многочисленных исследований в данной области, остаются трудности с их внедрением в клиническую практику. В первую очередь это связано с отсутствием стандартизации методик детекции метилирования гена *RASSF1* и с высокими требованиями к их аналитической чувствительности.

Цель исследования – разработка универсального метода детекции цоДНК при немелкоклеточном раке легкого на основании статуса метилирования CpG-нуклеотидов промоторной области гена *RASSF1*.

Материалы и методы исследования. В работе использована информация из международной базы данных The Cancer Genome Atlas, а материалом для исследования послужила опухолевая ткань пациентов с НМРЛ ($n = 10$), получавших лечение на базе РНПЦ ОМР имени Н. Н. Александрова [7]. Для оценки статуса метилирования промоторов гена *RASSF1* использованы данные 57 образцов опухолевой ткани НМРЛ I–IV стадии заболевания (аденокарцинома – 28, плоскоклеточный рак легкого – 29) и 27 образцов нормальной ткани легкого (проекты TCGA-LUAD, TCGA-LUSC). Для исследования использовали панель Infinium HumanMethylation 450 BeadChip. Исследовали следующие CpG нуклеотиды: первый промотор – cg06172942, cg25486143, cg27569446, cg21554552, cg25747192, cg08047457, cg12966367, cg04743654, cg00777121, cg13872831, cg24859722; второй промотор – cg07130266, cg06117233, cg23147362, cg20826201, cg00743929, cg09386807, cg02930432, cg21418575, cg06821120. Данные обрабатывали с помощью программы SeSAmE Methylation Beta Estimation. Пороговый уровень детекции метилированных нуклеотидов – 0,3.

Выделение ДНК из образцов крови, опухолевой ткани, заключенной в парафин, а также цоДНК из образцов плазмы крови производили с помощью наборов реагентов QIAamp DNA FFPE kit (Qiagen, Германия) и MagListo cfDNA kit (Bioneer, Южная Корея) соответственно согласно инструкциям производителей.

Для постановки метил-специфической ПЦР (мСПЦР) с детекцией результатов в 3%-м агарозном геле использовали набор реагентов ChemTaq ДНК-полимеразы («Артбиотех», Республика Беларусь), для реакции секвенирования – набор реагентов BigDye Terminator v3.1. kit (ThermoFisher, США) согласно протоколу производителя.

Постановку цифровой капельной ПЦР осуществляли на оборудовании QX200/600 (Bio-Rad, США) с применением готового мастер-микса с интеркалирующим красителем EvaGreen (Bio-Rad, США).

Результаты и их обсуждение. При анализе данных TCGA в образцах нормальной ткани легкого не обнаружено метилирования CpG-нуклеотидов первой промоторной области гена *RASSF1*, за исключением одиночного нуклеотида cg24859722 (рис. 1).

cg06172542	0,2	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2
cg25486143	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0
cg27569446	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
cg21954552	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
cg25747192	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
cg08047457	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
cg12966367	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
cg04743854	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0
cg00777121	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
cg13872851	0,1	0,1	0,0	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,1	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,1	0,1
cg24859722	0,5	0,4	0,4	0,4	0,4	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,4	0,4	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,4	0,5	0,5	0,5
cg07130266	0,4	0,4	0,4	0,4	0,3	0,4	0,4	0,5	0,3	0,4	0,4	0,4	0,3	0,4	0,3	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4	0,3	0,4	0,4	0,2	0,4	0,4
cg06117233	0,4	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4	0,3	0,3	0,4	0,3	0,4	0,4	0,5	0,4	0,4	0,3	0,4	0,4	0,3	0,4	0,4
cg23147362	0,1	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0
cg20826201	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
cg00743529	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2
cg09386807	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,5	0,4	0,5	0,3	0,4	0,4	0,5	0,4	0,4	0,3	0,4	0,4	0,5	0,4	0,4	0,3	0,4	0,4	0,3	0,5	0,4
cg02930432	0,4	0,3	0,4	0,3	0,4	0,4	0,3	0,5	0,3	0,4	0,4	0,5	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,2	0,4	0,4	0,3	0,4	0,2
cg21418575	0,6	0,5	0,5	0,4	0,5	0,6	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5	0,6	0,5	0,6	0,6	0,6	0,5	0,5	0,5	0,4	0,6	0,5
cg06821120	0,5	0,4	0,5	0,4	0,4	0,5	0,4	0,5	0,4	0,5	0,5	0,4	0,4	0,4	0,4	0,5	0,4	0,5	0,5	0,5	0,4	0,5	0,5	0,4	0,5	0,5

Рис. 1. Профиль метилирования гена *RASSF1* в образцах нормальной ткани легкого. Здесь и на рис. 2, 3 первый промотор отмечен скобкой, серым цветом выделены заметилованные CpG-нуклеотиды

Fig. 1. Methylation profile of the *RASSF1* gene in normal lung tissue samples. Here and in Fig. 2, 3 the first promoter marked with a bracket, CpG nucleotides highlighted in gray

cg06172942	0,3	0,3	0,1	0,5	0,4	0,1	0,3	0,5	0,2	0,5	0,2	0,2	0,3	0,3	0,4	0,3	0,1	0,3	0,5	0,4	0,4	0,1	0,5	0,7	0,4	0,2	0,1	0,3
cg25486143	0,2	0,3	0,0	0,3	0,3	0,0	0,1	0,4	0,0	0,5	0,1	0,0	0,2	0,0	0,4	0,3	0,0	0,2	0,4	0,3	0,3	0,0	0,4	0,7	0,1	0,0	0,0	0,1
cg27509446	0,3	0,0	0,0	0,5	0,4	0,0	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,1	0,0	0,3	0,5	0,5	0,3	0,1	0,4	0,7	0,0	0,0	0,0	0,1
cg11546852	0,3	0,1	0,0	0,5	0,5	0,0	0,0	0,6	0,0	0,6	0,1	0,1	0,1	0,0	0,5	0,1	0,0	0,3	0,5	0,5	0,4	0,1	0,5	0,7	0,0	0,0	0,0	0,2
cg25747192	0,3	0,1	0,0	0,4	0,5	0,0	0,0	0,6	0,0	0,6	0,1	0,1	0,1	0,0	0,5	0,2	0,1	0,3	0,5	0,5	0,3	0,1	0,4	0,7	0,1	0,1	0,0	0,2
cg03047457	0,3	0,2	0,0	0,5	0,4	0,0	0,0	0,5	0,0	0,5	0,1	0,1	0,1	0,0	0,5	0,2	0,0	0,3	0,5	0,5	0,3	0,1	0,4	0,7	0,0	0,1	0,0	0,2
cg12966367	0,3	0,1	0,0	0,5	0,4	0,0	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0	0,0	0,1	0,0	0,5	0,1	0,0	0,3	0,5	0,4	0,3	0,1	0,4	0,6	0,0	0,0	0,1	0,2
cg04740654	0,1	0,1	0,0	0,4	0,4	0,1	0,1	0,5	0,1	0,4	0,1	0,1	0,1	0,0	0,4	0,1	0,1	0,1	0,4	0,4	0,1	0,1	0,2	0,8	0,1	0,1	0,0	0,1
cg00777121	0,3	0,2	0,1	0,4	0,4	0,1	0,1	0,5	0,1	0,4	0,1	0,1	0,1	0,1	0,4	0,3	0,1	0,2	0,4	0,4	0,2	0,1	0,4	0,7	0,0	0,1	0,0	0,2
cg13073331	0,1	0,1	0,0	0,4	0,3	0,0	0,0	0,4	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,4	0,3	0,2	0,2	0,1	0,3	0,2	0,2	0,0	0,3	0,6	0,0	0,0	0,0	0,1
cg14309722	0,4	0,4	0,7	0,6	0,4	0,2	0,3	0,6	0,3	0,5	0,3	0,2	0,0	0,5	0,4	0,4	0,5	0,2	0,4	0,4	0,5	0,2	0,7	0,9	0,4	0,4	0,2	0,6
cg07301066	0,2	0,4	0,5	0,6	0,4	0,5	0,4	0,2	0,2	0,4	0,2	0,5	0,5	0,1	0,4	0,4	0,3	0,4	0,2	0,3	0,3	0,1	0,2	0,7	0,1	0,1	0,2	0,2
cg06117233	0,3	0,4	0,4	0,5	0,3	0,5	0,4	0,2	0,3	0,2	0,3	0,2	0,5	0,5	0,2	0,4	0,4	0,3	0,4	0,3	0,3	0,1	0,2	0,5	0,2	0,2	0,2	0,2
cg13147362	0,0	0,1	0,1	0,1	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
cg10530301	0,1	0,3	0,1	0,2	0,1	0,4	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,3	0,2	0,1	0,4	0,1	0,2	0,3	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,3	0,1	0,1
cg00740929	0,2	0,3	0,1	0,2	0,1	0,4	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1
cg09386807	0,1	0,5	0,3	0,5	0,2	0,5	0,4	0,1	0,2	0,2	0,4	0,2	0,5	0,3	0,1	0,5	0,4	0,3	0,5	0,1	0,3	0,3	0,0	0,1	0,7	0,1	0,2	0,1
cg10906432	0,1	0,5	0,2	0,4	0,2	0,5	0,4	0,1	0,1	0,1	0,4	0,2	0,5	0,3	0,1	0,5	0,3	0,3	0,4	0,1	0,3	0,3	0,0	0,1	0,7	0,1	0,1	0,1
cg1118575	0,3	0,5	0,4	0,5	0,4	0,5	0,5	0,2	0,3	0,1	0,5	0,2	0,5	0,5	0,2	0,5	0,4	0,3	0,4	0,3	0,5	0,4	0,2	0,2	0,7	0,2	0,3	0,3
cg06821120	0,2	0,5	0,3	0,5	0,3	0,5	0,4	0,1	0,2	0,1	0,4	0,2	0,5	0,4	0,2	0,4	0,3	0,3	0,3	0,2	0,3	0,3	0,1	0,1	0,7	0,1	0,2	0,2

Рис. 2. Профиль метилирования гена *RASSF1* в образцах аденокарциномы легкого

Fig. 2. Methylation profile of the *RASSF1* gene in lung adenocarcinoma samples

В 17,8 % случаев аденокарциномы и в 13,8 % случаев плоскоклеточного рака легкого наблюдалась потеря метильной группы в данном положении (рис. 2, 3). При анализе нуклеотидной последовательности в области cg24859722 обнаружен сайт связывания транскрипционного фактора FOXa1 [8].

В сравнении с нормальной тканью образцы НМРЛ характеризовались наличием метилированной области (cg27569446-cg12966367) в 42,8 % случаев при аденокарциноме и в 37,9 % случаев при плоскоклеточном раке легкого. Установлено, что большинство CpG-нуклеотидов метилированной области локализуется в нуклеотидных последовательностях для связывания транскрипционных факторов SP1 [8].

cg06172942	0.2	0.4	0.2	0.3	0.2	0.1	0.3	0.5	0.2	0.2	0.5	0.3	0.1	0.1	0.2	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.6	0.2	0.5	0.4	0.3	0.6	0.4	0.6	0.4
cg25486143	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.2	0.4	0.4	0.0	0.2	0.3	0.1	0.4	0.1	0.5	0.3
cg27569446	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4	0.5	0.4	0.0	0.4	0.5	0.3	0.5	0.2	0.5	0.4	
cg11554552	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.6	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4	0.4	0.3	0.0	0.4	0.5	0.3	0.5	0.2	0.6	0.5	
cg25747192	0.0	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	0.5	0.0	0.5	0.5	0.4	0.6	0.3	0.6	0.5	
cg08047457	0.0	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	0.5	0.0	0.5	0.5	0.4	0.6	0.3	0.6	0.5	
cg12966367	0.0	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.4	0.4	0.0	0.4	0.4	0.3	0.5	0.2	0.4	0.4	
cg04743654	0.0	0.0	0.1	0.1	0.0	0.1	0.1	0.5	0.1	0.0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.0	0.0	0.0	0.1	0.3	0.3	0.2	0.0	0.3	0.3	0.1	0.4	0.1	0.4	0.2
cg00777121	0.1	0.1	0.0	0.3	0.1	0.1	0.1	0.5	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.4	0.5	0.5	0.1	0.4	0.5	0.3	0.6	0.3	0.5	0.4	
cg13872831	0.0	0.0	0.0	0.2	0.2	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.3	0.3	0.4	0.4	0.0	0.3	0.3	0.2	0.4	0.4	0.4	0.2
cg4859722	0.0	0.5	0.1	0.5	0.7	0.4	0.5	0.5	0.5	0.2	0.7	0.5	0.1	0.3	0.3	0.6	0.7	0.6	0.5	0.8	0.7	0.3	0.6	0.4	0.3	0.6	0.5	0.6	0.4
cg07130266	0.4	0.5	0.2	0.4	0.8	0.1	0.6	0.1	0.7	0.2	0.8	0.5	0.6	0.4	0.2	0.7	0.4	0.6	0.2	0.8	0.6	0.4	0.5	0.3	0.2	0.4	0.5	0.6	0.2
cg06117233	0.4	0.5	0.2	0.4	0.6	0.2	0.5	0.1	0.5	0.3	0.6	0.5	0.5	0.4	0.2	0.6	0.4	0.5	0.3	0.6	0.6	0.4	0.5	0.4	0.2	0.4	0.5	0.6	0.3
cg23147362	0.3	0.3	0.0	0.1	0.7	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.6	0.4	0.1	0.3	0.0	0.6	0.1	0.6	0.0	0.6	0.6	0.1	0.1	0.1	0.0	0.1	0.3	0.1	0.1
cg20826201	0.5	0.4	0.1	0.2	0.7	0.0	0.1	0.1	0.3	0.1	0.7	0.5	0.4	0.4	0.1	0.6	0.1	0.6	0.1	0.7	0.6	0.2	0.3	0.2	0.1	0.1	0.4	0.3	0.2
cg00743929	0.5	0.3	0.1	0.2	0.6	0.1	0.2	0.1	0.3	0.1	0.5	0.4	0.3	0.3	0.1	0.6	0.2	0.6	0.2	0.6	0.6	0.2	0.2	0.2	0.1	0.2	0.3	0.2	0.1
cg09386807	0.5	0.4	0.1	0.2	0.7	0.1	0.3	0.1	0.4	0.3	0.7	0.6	0.4	0.5	0.1	0.6	0.2	0.6	0.2	0.8	0.7	0.3	0.3	0.3	0.1	0.2	0.4	0.6	0.1
cg23030432	0.5	0.4	0.0	0.2	0.8	0.0	0.2	0.0	0.4	0.2	0.7	0.6	0.4	0.5	0.0	0.7	0.2	0.6	0.1	0.8	0.7	0.2	0.3	0.4	0.1	0.1	0.5	0.7	0.1
cg1448575	0.5	0.5	0.2	0.4	0.8	0.2	0.4	0.1	0.5	0.4	0.7	0.6	0.5	0.6	0.2	0.7	0.4	0.6	0.3	0.8	0.7	0.4	0.5	0.4	0.2	0.3	0.5	0.7	0.3
cg06821120	0.5	0.4	0.1	0.4	0.7	0.1	0.3	0.1	0.5	0.3	0.7	0.6	0.5	0.5	0.1	0.6	0.3	0.6	0.2	0.7	0.7	0.3	0.4	0.3	0.1	0.2	0.5	0.7	0.2

Рис. 3. Профиль метилирования гена *RASSF1* в образцах плоскоклеточного рака легкогоFig. 3. Methylation profile of the *RASSF1* gene in lung squamous cells samples

Кроме того, обнаружены метилированные независимо друг от друга соседние CpG-нуклеотиды cg06172942 (аденокарцинома – 67,8 %, плоскоклеточный рак – 62,1 %) и cg25486143 (аденокарцинома – 42,8 %, плоскоклеточный рак – 24,1 %), расположенные на 5'-конце первой промоторной области.

На 3'-конце первого промотора гена *RASSF1* в образцах НМРЛ выявлено гиперметилирование CpG-нуклеотидов cg00777121 и cg13872831 (в 39,2 и 41,3 % случаев при аденокарциноме и в 32,1 и 37,9 % случаев соответственно при плоскоклеточном раке легкого). В связи со значительным удалением данных CpG-нуклеотидов от области cg27569446-cg12966367 (>90 и 200 bp соответственно) можно предположить, что они входят в состав других независимо метилированных областей гена.

При исследовании второй промоторной области гена *RASSF1*, отвечающей за экспрессию онкогенной изоформы *RASSF1C*, во всех образцах нормальной ткани обнаружено метилирование CpG-нуклеотидов cg07130266 и cg06117233, а также области cg09386807-cg06821120 на 5'-конце промотора. Между указанными метилированными участками расположены неметилированные CpG-нуклеотиды cg23147362, cg20826201 и cg00743929. На 3'-конце второго промотора не обнаружено метилирования нуклеотидов, включенных в панель.

В сравнении с нормальной тканью в образцах НМРЛ отмечена утрата метилирования или всей области cg09386807-cg06821120 (аденокарцинома – 25 %, плоскоклеточный рак – 17,2 %) или же отдельных CpG-нуклеотидов (аденокарцинома – 25 %, плоскоклеточный рак – 27,6 %). Потеря метилирования CpG-нуклеотидов cg07130266 или cg06117233 обнаружена в 42,8 % случаев при аденокарциноме и в 27,6 % случаев при плоскоклеточном раке легкого. При этом данные нарушения детектировались только у пациентов с утратой метилирования CpG-нуклеотидов области cg09386807-cg06821120.

Гиперметилирование CpG нуклеотидов cg20826201 и/или cg00743929 выявлено в 51,7 % случаев при плоскоклеточном раке легкого и в 21,4 % случаев при аденокарциноме ($p < 0,05$). Также для плоскоклеточного рака отмечена более высокая частота метилирования цитозина cg23147362 (37,9 % против 3,6 %, $p < 0,05$). Следует отметить, что при анализе нуклеотидной последовательности в области данного CpG-нуклеотида не обнаружено специфичных сайтов связывания транскрипционных факторов, а гиперметилирование CpG-нуклеотидов cg23147362, cg20826201 и cg00743929 наблюдалось исключительно в образцах, где отсутствовало aberrанное метилирование иных регионов второго промотора гена *RASSF1*.

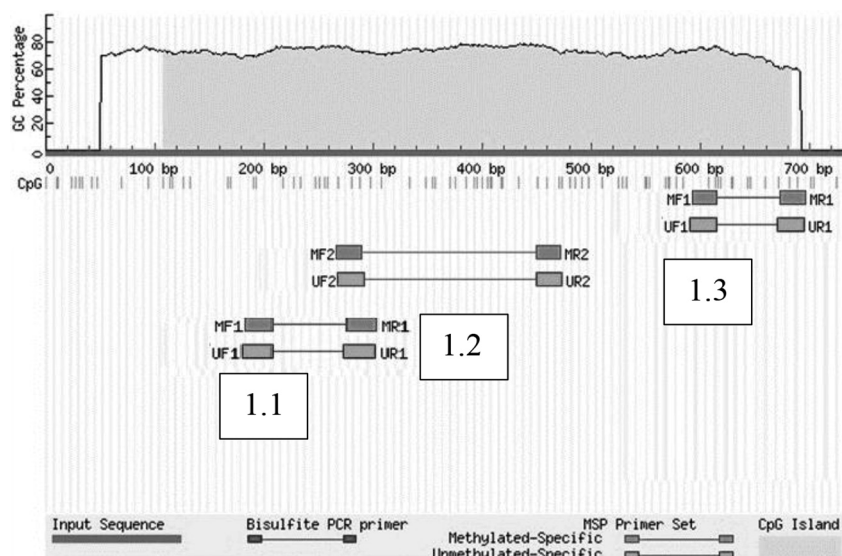


Рис. 4. Графическое изображение расположения праймеров для оценки статуса метилирования промоторной области № 1 гена *RASSF1*

Fig. 4. Graphical representation of the primer positions used to assess the methylation status of promoter region No. 1 of the *RASSF1* gene

Таким образом, использование праймеров для мПЦР, захватывающих область *cg27569446-cg12966367* в первом промоторе гена *RASSF1*, позволит детектировать до 40 % всех случаев НМРЛ независимо от гистологического типа опухоли, а при дополнительном включении в исследовательскую панель участка гена с CpG-нуклеотидами *cg23147362*, *cg20826201* и *cg00743929* из второй промоторной области – повысить данный показатель при плоскоклеточном раке легкого до 72,4 %.

Дизайн олигонуклеотидов для первой промоторной области гена RASSF1. Для поиска необходимых нуклеотидных последовательностей гена *RASSF1* использована база данных Gene NCBI (National Center for Biotechnology Information). Для дизайна специфических олигонуклеотидов выбрана референсная геномная последовательность GeneBank NC_000003.12 протяженностью 740 п. о. (в рамках последней публикации сборки генома человека) промоторной области гена *RASSF1* – GRCh38.p14 Primary Assembly. Ген *RASSF1* расположен на 3-й хромосоме (n.g.50329788-50340836), а выбранный фрагмент соответствует участку n.g.50340300-50341100 и содержит 84 CpG-нуклеотида.

Дизайн олигонуклеотидов осуществлен с использованием бесплатного программного онлайн-приложения MethPrimer [9].

Для оценки физических характеристик олигонуклеотидов и свободной энергии Гиббса (ΔG), а также для анализа вероятности образования вторичных структур ампликона (гомодимеров и шпилек) использован бесплатный онлайн-алгоритм IDT OligoAnalyzer Tool [10]. В связи с разнородной плотностью CpG-сайтов в промоторной области № 1 дизайн олигонуклеотидов осуществляли для трех различных регионов (рис. 4).

Последовательности сконструированных праймеров представлены в таблице.

Нуклеотидная последовательность промотора, CpG-нуклеотиды и места посадки синтетических олигонуклеотидов представлены на рис. 5.

Для отработки методики мПЦР использовали ДНК пациентов с аденокарциномой легкого, выделенную из парафиновых блоков, и ДНК лейкоцитов периферической крови (отрицательный контроль), в качестве положительного контроля – ДНК лейкоцитов периферической крови, обработанную метилтрансферазой SS1 (ThermoFisher, США).

Переменные параметры для оптимизации условий ПЦР: температура отжига праймеров – 56–64 °C, концентрация $MgCl_2$ – 0,5–4 mM, концентрации праймеров – 0,3–2 пкмоль/мкл, а также их соотношение в смеси.

В ходе оптимизации условий мПЦР установлено, что наиболее оптимальными наборами праймеров для определения статуса метилирования гена *RASSF1* являются пары 1.1 и 1.2 в концентрациях по 5 пкмоль на реакцию. Данные пары праймеров имеют 3 общих CpG-сайта и 5 различных (2 в первой паре праймеров и 3 во второй). Наиболее оптимальный протокол проведения реакции амплификации: 95 °C – 15 мин; 95 °C – 15 с, 54 °C – 30 с, 72 °C – 1 мин (45 циклов); 72 °C – 5 мин; 4 °C – ∞. Результаты исследования образцов ДНК, полученных из НМРЛ и лейкоцитов периферической крови, представлены на рис. 6.

Последовательности праймеров для мПЦР
Sequences of oligonucleotides for msPCR

Патогенный вариант	Нуклеотидная последовательность 5'→3'
Promotor 1.1	FM – TTTTGTATTTAGGTTTTTATTGCGC RM – CCGTACTTCGCTAACTTTAAACG FU – ATTTAGGTTTTTATTGTGTGG RU – CCATACTTCACTAACTTTAAACACT
Promotor 1.2	FM – TTAGCGTTTAAAGTTAGCGAAGTAC RM – TACCGTATAAAATTACACGCGAT FU – AGTGTTTAAAGTTAGTGAAGTATGG RU – ACTACCATATAAAATTACACACAAT
Promotor 1.3	FM – GGTAAGTTAAGGGGTAGCGTAGTC RM – TTCAACGATAAAACGAAAATAACG FU – GGGGTAGTTAAGGGGTAGTGTAGTT RU – TCAACAATAAAACAAAATAACAAA

Примечание. Праймеры: F – прямой, R – обратный, M – метилированный, U – неметилированный.

Валидация результатов методом секвенирования. Очистку продуктов ПЦР и секвенирования производили методом прямого осаждения спиртом в мягких условиях. Для анализа данных использовали генетический анализатор ABI 3500 (ThermoFisher, США). Полученные последовательности ДНК сравнивали с референсными последовательностями, размещенными в электрон-

CGGGTATCTC**CGCG**TGGTGCTTTGCGGTCCGCGTCTGTTGTGGCCGTCGCGGGGTGGGGTGTGAGG
AGGGGACGAAGGAGGGAAGGAAGGGCAAGGCGGGGGGGGCTCTG**CG**AGAG**CGCG**CCCAGC
CC**CG**CCTT**CG**GGCCCCACAGT**CCCTGCACCCAGGTTTCCATTGCGCG**GCTCTCCTCAGCT
CCTTCCCGCCGCCCAGTCTGGATCCTGGGGGAGGCGCTGAAGT**CGGGGCCCGCCCTGTGGCCC****CG**
CCCGGCCCGCGCTTG**CTAGCGCCCAAGCCAGCGAAGCAAGG**GCCCAACCGGCCATGT**CG**
GGGGAGCCTGAGCTCATTGAGCTGCGGGAGCTGGCACC**CG**CTGGGCGCGCTGGGAAGGGCCGCA
CCCGGCTGGAGCGTGCCAACCGCGCTGCGCATCGCGCGGGGC**ACCGCGTGCACCCACACCGG**
CAGCTGGTCCCTGGCCGTGGCCACCGCTTCCAGCCCGCGGGGCCCGCCACGCACACCTGGTGCGA
CCTCTGTGGCGACTTCATCTGGGGCGTCGTGCGCAAAGGCCTGCAGTGCG**CGCG**TGAGTAGTGGC
CCCGCGCGCCTACGAGAGCGGAAG**GGGGCAGCCAAGGGGCAGCGCAGTCCGCGCGGGTCAA**
GTCGCGGCAGAGGGGGT**CGGCGGGGACAGCTCCCGAGGACTAGGTCCGTTACTTTCCGCCCA**
TCGCTGAAGAGTGC**CGCG**AAAATGGTTTATCCCTTGT**CG**CACTCCACTCGTAT

Рис. 5. Первый промотор гена *RASSF1*. Серым цветом выделены CpG-нуклеотиды, крупным шрифтом – CpG-нуклеотиды, входящие в состав панели TCGA, жирным шрифтом – олигонуклеотиды для мПЦР (пара 1.2 зачеркнута)

Fig. 5. First promoter of the *RASSF1* gene. CpG nucleotides highlighted in gray, CpG nucleotides included in the TCGA panel are indicated in large font, and oligonucleotides for MS-PCR are highlighted in bold (pair 1.2. crossed out)

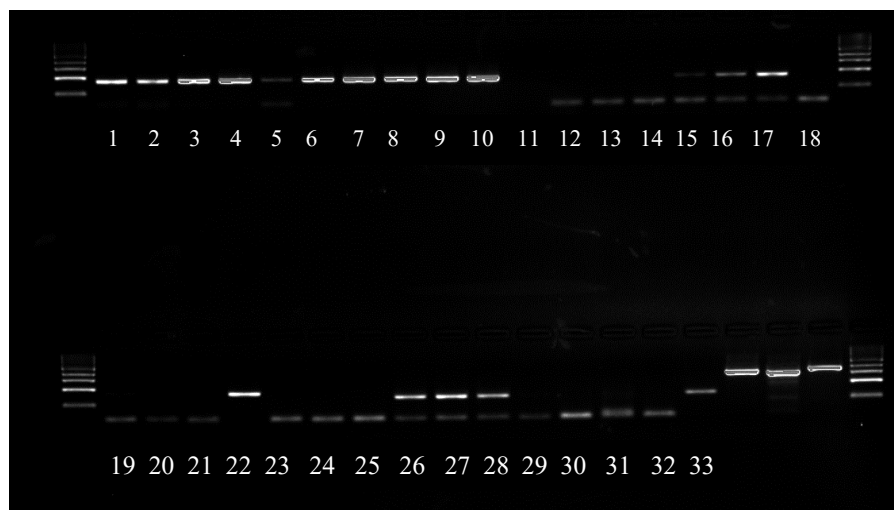


Рис. 6. Результаты гель-электрофореза продуктов мсПЦР: 1–11 – неметилованная пара праймеров № 2 175 bp (1–6 – НМРЛ, 7–10 – кровь, 11 – обработка метилтрансферазой), 12–22 – метилированная пара праймеров № 2 174 bp (12–17 – НМРЛ, 18–21 – кровь, 22 – обработка метилтрансферазой), 23–33 – метилированная пара праймеров № 1 146 bp (23–28 – НМРЛ, 29–32 – кровь, 33 – обработка метилтрансферазой)

Fig. 6. Results of gel electrophoresis msPCR products: 1–11 – unmethylated primer pair No. 2, 175 bp (1–6 – NSCLC, 7–10 – blood, 11 – methyltransferase treatment), 12–22 – methylated primer pair No. 2, 174 bp (12–17 – NSCLC, 18–21 – blood, 22 – methyltransferase treatment), 23–33 – methylated primer pair No. 1, 146 bp (23–28 – NSCLC, 29–32 – blood, 33 – methyltransferase treatment)

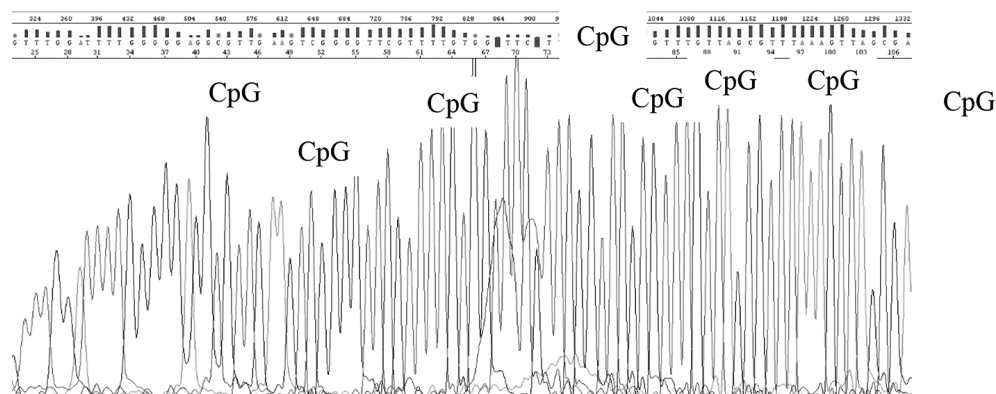


Рис. 7. Электрофореграмма контрольного образца с использованием метилированной пары праймеров 1.1

Fig. 7. Electropherogram of the control sample using methylated primer pair 1.1

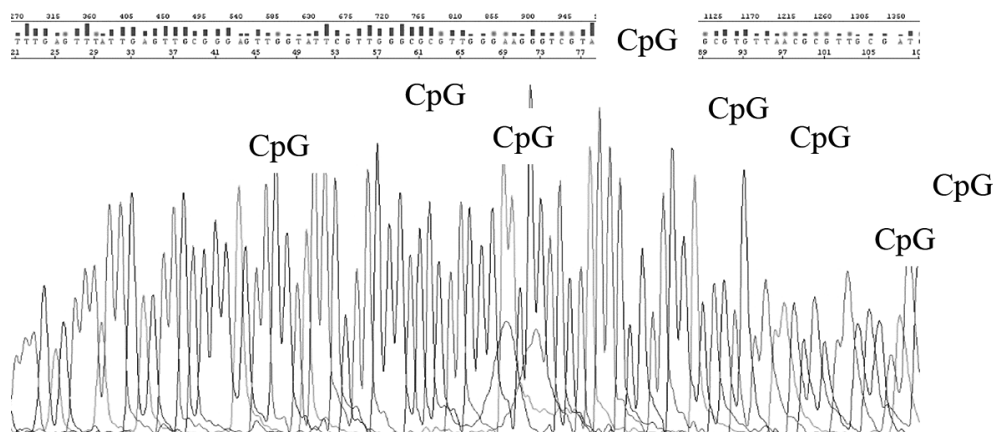


Рис. 8. Электрофореграмма контрольного образца с использованием метилированной пары праймеров 1.2

Fig. 8. Electropherogram of the control sample using methylated primer pair 1.2

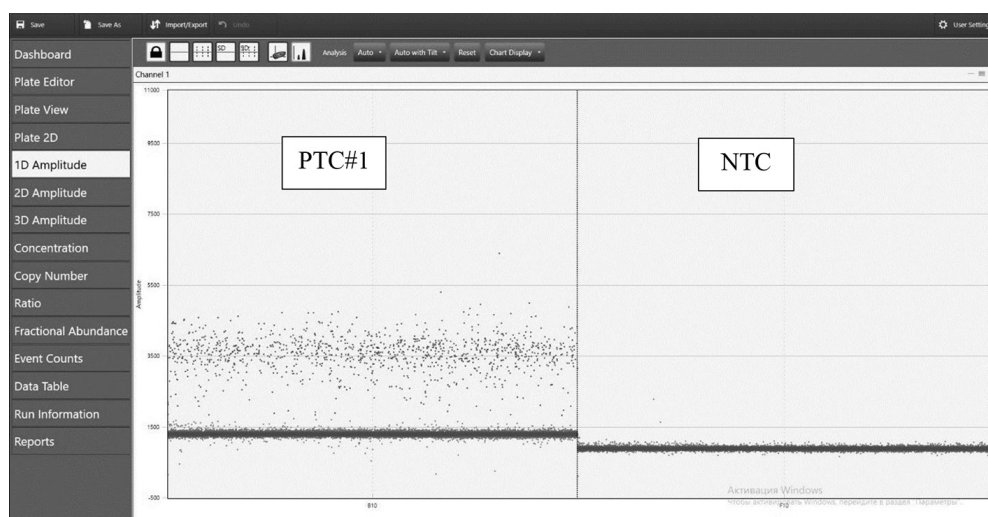


Рис. 9. Результаты цкПЦР метилированного образца опухолевой ткани (PTC № 1) и отрицательного контроля (NTC, ДНК лейкоцитов периферической крови)

Fig. 9. Results of ddPCR analysis of the methylated tumor tissue (PTC No. 1) and the negative control (NTC, DNA from peripheral blood leukocyte)

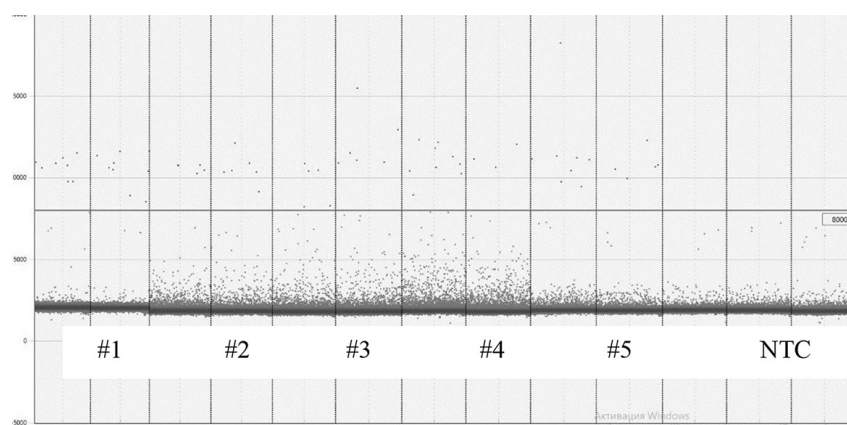


Рис. 10. Результаты цкПЦР серийных образцов плазмы (№ 1–5) от одного пациента с наличием метилирования промотора гена *RASSF1* в опухолевой ткани (дубли) и отрицательного контроля (NTC, вода, триплет)

Fig. 10. Results of ddPCR analysis of series plasma samples (No. 1–5) from a single patient, showing the presence of *RASSF1* promoter methylation in tumor tissue (duplicates) and negative control (NTC, water, triplet)

ной базе данных NCBI (<http://ncbi.nlm.nih.gov>). Электрофореграммы контрольных образцов ДНК, обработанных метилтрансферазой, приведены на рис. 7, 8.

Цифровая капельная ПЦР. Отобранные пары олигонуклеотидов далее использовали для разработки метода оценки статуса метилирования гена *RASSF1* с помощью цифровой капельной ПЦР (цкПЦР).

цДНК выделяли из плазмы крови (объем 2 мл). Средняя концентрация образцов составила 0,34 нг/мкл, средняя концентрация цДНК после бисульфитной конверсии – 0,03 нг/мкл.

В ходе оптимизации условий цкПЦР установлено, что наиболее специфичным набором праймеров является пара 1.1 в концентрациях по 150 нмоль на реакцию, так как пара праймеров 1.2 дает неспецифическую амплификацию неуставленного фрагмента ДНК. Оптимальный протокол проведения реакции амплификации: 95 °C – 5 мин; 95 °C – 30 с, 54 °C – 1 мин (40 циклов); 4 °C – 5 мин; 90 °C – 5 мин; 4 °C – ∞. Дополнительная обработка рестриктазой не проводилась в связи с низкой концентрацией и значительной фрагментацией ДНК. При анализе цДНК реакцию ставили в дублях.

Среднее количество капель, пригодных для анализа одного образца, составило 20 тыс. на образец для FFPE и 40 тыс. для цоДНК. Пороговый уровень для детекции метилирования промоторной области гена *RASSF1* – 3 сигнала.

Дискриминация положительного (FFPE) и отрицательного (ДНК, выделенная из лейкоцитов периферической крови) контролей представлена на рис. 9.

Разработанную методику использовали для детекции цоДНК пациентов с плоскоклеточным раком легкого в рамках проекта БРФФИ-РНФ № 131, что позволило увеличить исследуемую выборку НМРЛ на 40 %. Пример результатов тестирования 5 серийных образцов плазмы от одного пациента с НМРЛ, у которого ранее в опухоли было выявлено метилирование промотора гена *RASSF1*, представлено на рис. 10.

Заключение. Нами разработан метод детекции цоДНК у пациентов с НМРЛ, основанный на исследовании специфичного опухолевого маркера, а именно статуса метилирования промоторной области гена *RASSF1* с помощью цифровой капельной ПЦР. Опыт поиска опухоль-специфичных мишеней на основе анализа данных TCGA может быть использован при внедрении в клиническую практику молекулярных технологий изучения внеклеточной ДНК для диагностики заболевания и мониторинга эффективности проводимого противоопухолевого лечения.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Работа выполнена в рамках гранта БРФФИ М23 РНФ № 131.

Acknowledgements. The work was carried out within the framework of the BRFFR M-23 RSF, grant No. 131.

Список использованных источников

1. Methylation dynamics of RASSF1A and its impact on cancer / G. Malpeli, G. Innamorati, I. Decimo [et al.] // *Cancers*. – 2019. – Vol. 11, N 7. – Art. 959. <https://doi.org/10.3390/cancers11070959>
2. RASSF1A, puppeteer of cellular homeostasis, fights tumorigenesis, and metastasis – an updated review / F. Dubois, E. Bergot, G. Zalcman, G. Levallet // *Cell Death and Disease*. – 2019. – Vol. 10, N 12. – Art. 928. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-2169-x>
3. Association of RASSF1A promoter methylation with lung cancer risk: a meta-analysis / Y.-Z. Huang, W. Wu, K. Wu [et al.] // *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. – 2014. – Vol. 15, N 23. – P. 10325–10328. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2014.15.23.10325>
4. DNA methylation analysis of the SHOX2 and RASSF1A panel using cell-free DNA in the diagnosis of malignant pleural effusion / N. Zhang, Z. Liu, K. Li [et al.] // *Journal of Oncology*. – 2023. – Vol. 2023. – Art. 5888844. <https://doi.org/10.1155/2023/5888844>
5. Hypermethylated RASSF1A as circulating tumor DNA marker for disease monitoring in neuroblastoma / L. Zogchel, E. Wezel, J. Wijk [et al.] // *JCO Precision Oncology*. – 2020. – Vol. 4. – P. 291–306. <https://doi.org/10.1200/PO.19.00261>
6. Prognostic value of RASSF1A methylation status in non-small cell lung cancer (NSCLC) patients: A meta-analysis of prospective studies / H. Hu, Y. Zhou, M. Zhang, R. Ding // *Biomarkers*. – 2019. – Vol. 24, N 3. – P. 207–216. <https://doi.org/10.1080/1354750X.2019.1583771>
7. National Cancer Institute. The Cancer Genome Atlas. URL: <https://portal.gdc.cancer.gov> (date of access: 12.05.2025).
8. Tfsitescan. – URL: <http://www.ifti.org/cgi-bin/ifti/Tfsitescan.pl> (date of access: 12.05.2025).
9. The Li Lab. MethPrimer 2.0. – URL: <http://www.urogene.org/cgi-bin/methprimer/methprimer.cgi> (date of access: 12.05.2025).
10. Integrated DNA technologies. OlygoAnalyzer. – URL: <https://www.idtdna.com/pages/tools/oligoanalyzer> (date of access: 12.05.2025).

References

1. Malpeli G., Innamorati G., Decimo I., Bencivenga M., Kamdje A. H. N., Perris R., Bassi C. Methylation dynamics of RASSF1A and its impact on cancer. *Cancers*, 2019, vol. 11, no. 7, art. 959. <https://doi.org/10.3390/cancers11070959>
2. Dubois F., Bergot E., Zalcman G., Levallet G. RASSF1A, puppeteer of cellular homeostasis, fights tumorigenesis, and metastasis – an updated review. *Cell Death and Disease*, 2019, vol. 10, no. 12, art. 928. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-2169-x>
3. Huang Y.-Z., Wu W., Wu K., Xu X.-N., Tang W.-R. Association of RASSF1A promoter methylation with lung cancer risk: a meta-analysis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2014, vol. 15, no. 23, pp. 10325–10328. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2014.15.23.10325>
4. Zhang N., Liu Z., Li K., Xing X., Long C., Liu F., She B., Che N. DNA methylation analysis of the SHOX2 and RASSF1A panel using cell-free DNA in the diagnosis of malignant pleural effusion. *Journal of Oncology*, 2023, vol. 2023, art. 5888844. <https://doi.org/10.1155/2023/5888844>
5. Zogchel L., Wezel E., Wijk J., Stutterheim J., Bruins W. S. C., Zappeij-Kannegieter L. [et al.]. Hypermethylated RASSF1A as circulating tumor DNA marker for disease monitoring in neuroblastoma. *JCO Precision Oncology*, 2020, vol. 4, pp. 291–306. <https://doi.org/10.1200/PO.19.00261>

6. Hu H., Zhou Y., Zhang M., Ding R. Prognostic value of RASSF1A methylation status in non-small cell lung cancer (NSCLC) patients: A meta-analysis of prospective studies. *Biomarkers*, 2019, vol. 24, no. 3, pp. 207–216. <https://doi.org/10.1080/1354750X.2019.1583771>
7. *National Cancer Institute. The Cancer Genome Atlas*. Available at: <https://portal.gdc.cancer.gov> (accessed 12.05.2025).
8. *TfSITEScan*. Available at: <http://www.ifti.org/cgi-bin/ifti/Tfsitescan.pl> (accessed 12.05.2025).
9. *The Li Lab. MethPrimer 2.0*. Available at: <http://www.urogene.org/cgi-bin/methprimer/methprimer.cgi> (accessed 12.05.2025).
10. *Integrated DNA technologies. OlygoAnalyzer*. Available at: <https://www.idtdna.com/pages/tools/oligoanalyzer> (accessed 12.05.2025).

Информация об авторах

Смирнов Сергей Юрьевич – биолог. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н. Н. Александрова (223040, а/г Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: rustledeath24@gmail.com

Медведь Антонина Викторовна – врач клинической лабораторной диагностики. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н. Н. Александрова (223040, а/г Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: dr.medvedav@gmail.com

Пивоварчик Сергей Николаевич – врач-онколог. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н. Н. Александрова (223040, а/г Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: serginio0290@rambler.ru

Вахомчик Татьяна Георгиевна – врач-радиолог. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н. Н. Александрова (223040, а/г Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: chik-city@tut.by

Короткевич Павел Евгеньевич – канд. мед. наук, доцент, заведующий отделением. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н. Н. Александрова (223040, а/г Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: pavelkorotkevich@mail.ru

Субоч Елена Ивановна – канд. мед. наук, доцент, заведующий отделением. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н. Н. Александрова (223040, а/г Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: helen_suboch@mail.ru

Портянко Анна Сергеевна – д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н. Н. Александрова (223040, а/г Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: a_port@mail.ru

Information about the authors

Siarhei Y. Smirnou – biologist. N. N. Alexandrov National Cancer Centre (223040, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: rustledeath24@gmail.com

Antonina V. Miadzvedz – doctor of clinical laboratory diagnostic. N. N. Alexandrov National Cancer Centre (223040, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: dr.medvedav@gmail.com

Siarhei N. Pivavarchyk – oncologist. N. N. Alexandrov National Cancer Centre (223040, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: serginio0290@rambler.ru

Tatsiana G. Vakhomchyk – radiologist. N. N. Alexandrov National Cancer Centre (223040, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: chik-city@tut.by

Pavel E. Karatkevich – Ph. D. (Med.), Associate Professor, Head of the Department. N. N. Alexandrov National Cancer Centre (223040, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: pavelkorotkevich@mail.ru

Helen I. Subach – Ph. D. (Med.), Associate Professor, Head of the Department. N. N. Alexandrov National Cancer Centre (223040, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: helen_suboch@mail.ru

Anna S. Portyanko – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory. N. N. Alexandrov National Cancer Centre (223040, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: a_port@mail.ru

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.314085:616.34

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-4-324-331>

Поступила в редакцию 29.07.2025

Received 29.07.2025

**М. А. Постников¹, С. П. Рубникович², Ю. Н. Батталова³, Ю. Л. Денисова²,
Л. Т. Волова¹, Н. К. Осина¹, М. В. Свечникова¹, Е. М. Постникова¹**

¹Самарский государственный медицинский университет, Самара, Российская Федерация²Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь³Национальный медицинский исследовательский центр высоких медицинских технологий –
Центральный военный клинический госпиталь имени А. А. Вишневого,
Москва, Российская Федерация

ИНГИБИРОВАНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ ПРЕПАРАТОМ «АЛЬВОСТАЗ» В МОДЕЛИ *IN VITRO*

Аннотация. Цель исследования – изучить молекулярный механизм действия лекарственного препарата (ЛП) «Альвостаз».

В работе использовали следующую схему оценки молекулярного механизма действия ЛП «Альвостаз»: для запуска воспаления и цитокинового синтеза клетки стимулировали триггером воспаления ТНФ-α (первая серия экспериментов), а для оценки биологической активности ЛП «Альвостаз» клетки обрабатывали смесью ТНФ-α с ЛП «Альвостаз» в разной концентрации (вторая серия экспериментов). Опосредованный эффект ТНФ-α на клетки оценивали по уровню секреции цитокинов ИЛ-6 и MCP-1, принимающих участие в патогенезе альвеолярного воспаления и поддержании гомеостаза костной ткани.

При стимуляции воспаления с помощью ТНФ фибробласты резко увеличивали продукцию MCP-1 и ИЛ-6. В первой серии экспериментов были подобраны оптимальные концентрации триггера воспаления TNF-α и ЛП «Альвостаз», при которых фибробласты человека сохраняли жизнеспособность и отвечали на стимуляцию воспаления синтезом цитокинов ИЛ-6 и MCP-1. Увеличение концентраций MCP-1 в культуральной среде коррелировало с уменьшением концентрации ЛП «Альвостаз», что указывает на ингибирующий эффект ЛП «Альвостаз» на MCP-1. При тех же условиях продукция ИЛ-6 фибробластами носит прямо противоположный характер по сравнению с MCP-1. Сам по себе ЛП «Альвостаз» не вызывает синтез и секрецию цитокина ИЛ-6 нестимулированными фибробластами во внеклеточную среду без добавления ТНФ. ТНФ-стимулированные фибробласты демонстрировали уменьшение продукции ИЛ-6 пропорционально уменьшению дозы ЛП «Альвостаз» в культуральной среде, что указывает на корреляцию между синтезом ИЛ-6 и наличием ЛП «Альвостаз» в культуральной среде клеток.

Ключевые слова: цитокины, альвеолит, *in vitro*, фибробласты

Для цитирования: Ингибирование противовоспалительных цитокинов препаратом «Альвостаз» в модели *in vitro* / М. А. Постников, С. П. Рубникович, Ю. Н. Батталова [и др.] // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2025. – Т. 22, № 4. – С. 324–331. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-4-324-331>

**Mikhail A. Postnikov¹, Sergey P. Rubnikovich², Yulia N. Battalova³, Yulia L. Denisova²,
Larisa T. Volova¹, Natalia K. Osina¹, Maria V. Svechnikova¹, Elizaveta M. Postnikova¹**

¹Samarsky State Medical University, Moscow, Russian Federation²Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus³National Medical Research Center for High Medical Technologies –
A. A. Vishnevsky Central Military Clinical Hospital, Moscow, Russian Federation

INHIBITION OF ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINES BY THE DRUG “ALVOSTAZ” IN THE *IN VITRO* SYSTEM

Abstract. The aim of the work is to study the molecular mechanism of action of the drug “Alvostaz”.

The following scheme was used to evaluate the molecular mechanism of action of “Alvostaz”: to trigger inflammation and cytokine synthesis, cells were stimulated by the inflammatory trigger TNF-α (1 series of experiments), and to assess the biological activity of “Alvostaz”, cells were treated with a mixture of TNF-α and “Alvostaz” in different concentrations (2 series of experiments). The mediated effect of TNF-α on cells was assessed by the level of secretion of cytokines IL-6 and MCP-1, involved in the pathogenesis of alveolar inflammation and the maintenance of bone homeostasis. When inflammation was stimulated by TNF, fibroblasts dramatically increased the production of MCP-1 and IL-6. In the first series of experiments, optimal concentrations of the inflammatory trigger TNF-α and “Alvostaz” were selected, at which human fibroblasts remained viable and responded to inflammation stimulation by synthesizing cytokines IL-6 and MCP-1. An increase in MCP-1 concentrations in the culture medium correlated with a decrease in the concentration of “Alvostaz”;

which indicates the MCP-1 inhibitory effect of “Alvostaz”. Under the same conditions, the production of IL-6 by fibroblasts is exactly the opposite in nature compared to MCP-1. By itself, “Alvostaz” does not cause synthesis and secretion of cytokine IL-6 into the extracellular medium by unstimulated fibroblasts without the addition of TNF. TNF-stimulated fibroblasts demonstrated a decrease in IL-6 production in proportion to a decrease in the dose of “Alvostaz” in the culture medium, which indicates a correlation between IL-6 synthesis and the presence of “Alvostaz” in the cell culture medium.

Keywords: cytokines, alveolitis, *in vitro*, fibroblasts

For citation: Postnikov M. A., Rubnikovich S. P., Battalova Yu. N., Denisova Yu. L., Volova L. T., Ossina N. K., Svechnikova M. V., Postnikova E. M. Inhibition of anti-inflammatory cytokines by the drug “Alvostaz” in the *in vitro* system. *Vesti Natsyuanal'nai akademii nauk Belarusi. Seriya medytsynskikh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2025, vol. 22, no. 4, pp. 324–331 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-4-324-331>

Введение. К тканям периодонта относятся окружающие зуб ткани, обеспечивающие зубодесневое соединение. Развитие хронического периодонтита обусловлено появлением специфических субгингивальных бактерий, проникающих из глубоких отделов десневой борозды (экзотоксинов и эндотоксинов, продуцируемых периодонтопатогенными микроорганизмами), что приводит к длительному воспалению и разрушению тканей периодонта с последующим образованием периодонтальных карманов [1, 2].

Воспаление опосредуется преимущественно клетками так называемого моноцитарного звена – нейтрофилами, моноцитами/макрофагами и Т- и В-лимфоцитами, которые перемещаются в область воспаления путем хемотаксиса, привлекаемые специальными молекулами (хемокинами). В результате привлечения клеток моноцитарного звена в очаг воспаления эти клетки начинают вырабатывать медиаторы воспаления, которые способствуют деградации тканей и резорбции кости [3–5]. Одним из известных триггеров воспаления является фактор некроза опухоли (ТНФ- α), который инициирует локальное высвобождение цитокинов, стимулирует адгезию, миграцию и активацию лейкоцитов в месте инвазии. Интерлейкины – наиболее многочисленное семейство цитокинов, участвующих в межклеточной коммуникации. Известно, что совместно с инфильтрирующими клетками воспаления (моноциты/макрофаги) десневые фибробласты способны продуцировать цитокины, хемокины и матриксные металлопротеиназы, которые принимают участие как в поддержании гомеостаза костной ткани, так и в патогенезе воспаления [6–8]. Фибробласты периодонтальной связки, как ключевые клетки соединительной ткани, играют важную роль в паракринной сигнализации воспаления, обеспечивая регуляцию различных клеточных функций и процессов, таких как воспаление, регенерация и ремоделирование тканей [9, 10]. Паракринная сигнализация – это форма клеточной коммуникации, при которой фибробласты выделяют сигнальные молекулы (цитокины, факторы роста и другие медиаторы) и действуют на соседние клетки в пределах локальной области. Все это способствует привлечению иммунных клеток (моноцитов, макрофагов) к месту воспаления, увеличению проницаемости сосудов, что позволяет лейкоцитам и плазме проникать в ткани и стимулировать регенеративные процессы, способствуя восстановлению поврежденных тканей.

В клинической практике для профилактики и лечения альвеолита применяется специальное средство – «Альвостаз-губка». Предполагается, что это средство можно вводить в периодонтальный карман при лечении хронического генерализованного периодонтита средней степени тяжести.

Цель работы – изучить молекулярный механизм действия лекарственного препарата «Альвостаз».

Материалы и методы исследования. Приготовление вытяжки препарата «Альвостаз» осуществлялось согласно ГОСТ Р ИСО 10993.12-99. Так, в культуральную жидкость М199 («Биолот», Россия) помещали губку «Альвостаз» и оставляли на 24 ч при перемешивании на магнитной мешалке. После 24-часовой инкубации в питательной среде М199 вытяжку фильтровали через фильтр 0,22 мк («Биолот») для стерилизации. Проведено серийное разведение ЛП в концентрациях $\times 2$, $\times 4$, $\times 8$, $\times 16$, $\times 32$ и $\times 64$.

Посев клеток на 96-луночный планшет. Клетки в экспоненциальной фазе роста снимали с культурального флакона стандартным способом с использованием трипсина. Суспензию клеток отмывали и подсчитывали их концентрацию с помощью камеры Горяева. Необходимая посевная доза – 15 тыс. клеток на лунку. Клетки высевали в лунки 96-луночного планшета,

обработанные желатином. Объем среды в лунках доводили до 200 мкл. Клетки культивировали в CO₂-инкубаторе при 37 °С и 5 % CO₂ до конfluenceции 80–90 %.

МТТ-тест. Метаболическую активность клеток исследовали путем проведения МТТ-теста по стандартному протоколу. МТТ-тест позволяет колориметрически определить жизнеспособность клеток по интенсивности реакции восстановления тетразолиевого красителя НАДФ-Н-зависимыми оксидоредуктазными ферментами. После 24 ч культивирования клеток в присутствии вытяжки «Альвостаз» в лунки добавляли тетразолиевый краситель и инкубировали в течение 4 ч при 37 °С, что приводило к образованию не растворимых в воде фиолетовых кристаллов. Далее среду удаляли, вносили по 200 мкл ДМСО (Sigma, Россия) для растворения кристаллов, а полученный окрашенный раствор переносили в 96-луночный планшет по 100 мкл/лунку. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре при длине волны 540 нм. Отрицательным контролем служили лунки без клеток, наполненные полной питательной средой.

Титрование триггера воспаления TNF-α. Проводили серийное 10-кратное разведение TNF-α. В лунки, содержащие культуру клеток фибробластов человека, добавляли 200 мкл раствора TNF-α в конечных концентрациях 200; 20; 2; 0,2; 0,02; 0,002 и 0,0002 нг/мл.

Тестирование действия ЛП «Альвостаз». Смесь 5 нг/мл TNF-α с серийно разведенным ЛП «Альвостаз» добавляли в лунки, содержащие культуру клеток фибробластов человека, с последующей инкубацией клеток в CO₂-инкубаторе. Через 20 ± 2 ч осуществляли сбор питательных сред из лунок 96-луночного планшета в эппендорфы. Культуральные среды хранили при –20 °С для последующего иммуноферментного анализа (ИФА).

ИФА-анализ. Анализ проводили в соответствии с инструкциями производителя наборов ИФА-ИЛ-6 и ИФА МСР-1 («Вектор-Бест», Россия). Чувствительность ИФА составляла: для ИЛ-6 – 0,5 пг/мл, для ИЛ-8 – 2, для МСР-1 – 15 пг/мл.

Результаты и их обсуждение. *Определение оптимальной дозы TNF-α для стимуляции синтеза цитокинов ИЛ-6 и МСР-1.* В первой серии экспериментов была выбрана оптимальная концентрация TNF-α для стимуляции воспаления в клеточной культуре фибробластов. Провоспалительный эффект TNF-α на культуру фибробластов человека оценивали по уровню секреции цитокинов ИЛ-6 и МСР-1, принимающих участие в патогенезе альвеолярного воспаления. Кондиционированная среда от клеток, не обработанных TNF-α (0), содержала следовые количества данных факторов (рис. 1, 2). После обработки клеток TNF-α в концентрации от 0,2 до 200 нг/мл содержание цитокинов в кондиционированной среде возрастало пропорционально TNF-дозам (рис. 1, 2). Как видно из рис. 1, 2, дозы TNF-α в пределах от 2 до 10 нг/мл были оптимальными для стимуляции продукции обоих цитокинов.

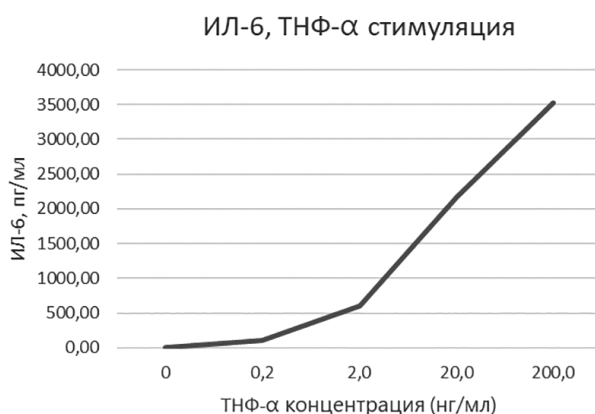


Рис. 1. Продукция ИЛ-6 в ответ на стимуляцию триггером воспаления TNF-α. Концентрация ИЛ-6 в культуральной среде первичной культуры клеток фибробластов увеличивалась пропорционально увеличению концентрации TNF-α (0,2–200 нг/мл). Контрольные фибробласты (0 нг/мл TNF) продуцировали 2,08 ± 0,47 пг/мл ИЛ-6

Fig. 1. IL-6 production in response to stimulation by the TNF-α inflammatory trigger.

The concentration of IL-6 in the culture medium of the primary fibroblast cell culture increased in proportion to the increase in TNF-α concentration (0.2–200 ng/ml). Control fibroblasts (0 ng/ml TNF) produced 2.08 ± 0.47 pg/ml IL-6

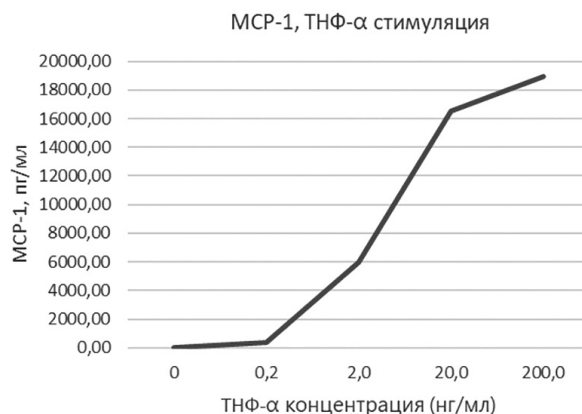


Рис. 2. Продукция MCP-1 в ответ на стимуляцию триггером воспаления TNF-α. Концентрация MCP-1 в культуральной среде первичной культуры клеток фибробластов увеличивалась пропорционально увеличению концентрации TNF-α (0,2–200 нг/мл). Контрольные фибробласты (0 нг/мл TNF) продуцировали $18,27 \pm 1,66$ пг/мл MCP-1

Fig. 2. MCP-1 in response to stimulation by the TNF-α inflammatory trigger. The concentration of MCP-1 in the culture medium of the primary fibroblast cell culture increased in proportion to the increase in TNF-α concentration (0.2–200 ng/ml). Control fibroblasts (0 ng/ml TNF) produced 18.27 ± 1.66 pg/ml MCP-1

Присутствие в культуральной среде TNF-α в концентрации 5 нг/мл приводит к накоплению в культуральной среде фибробластов MCP-1 и ИЛ-6 до ~7 500 и ~1 000 пг/мл соответственно. Таким образом, TNF-α-стимулированные фибробласты вырабатывают в клеточную среду в сотни раз больше MCP-1 и ИЛ-6 по сравнению с контрольными нестимулированными клетками.

Определение цитотоксичности вытяжки «Альвостаз». Для определения цитотоксичности «Альвостаз» проведен МТТ-тест через 48 ч после обработки TNF-α-стимулированных фибробластов вытяжкой «Альвостаз» в разведении $\times 1$, $\times 2$, $\times 4$, $\times 8$, $\times 16$, $\times 32$ и $\times 64$. Контрольные клетки (жизнеспособность 100 %) – это клетки, которые выращивали *in vitro* в среде, не содержащей «Альвостаз». МТТ-тест показал, что только 10–15 % фибробластов жизнеспособны в присутствии концентрированных форм вытяжки «Альвостаз» в разведении $\times 1$, $\times 2$ и $\times 4$. Как видно из рис. 3, начиная с разведения вытяжки $\times 8$ клетки демонстрируют стабильную жизнеспособность в пределах 90 %.

Таким образом, в рамках второго этапа исследований стимуляцию триггером воспаления TNF-α (5 нг/мл) проводили при серийных разведениях вытяжки ЛП «Альвостаз» от $\times 8$ до $\times 64$, при которых клетки демонстрируют стабильную жизнеспособность в пределах 90 %.

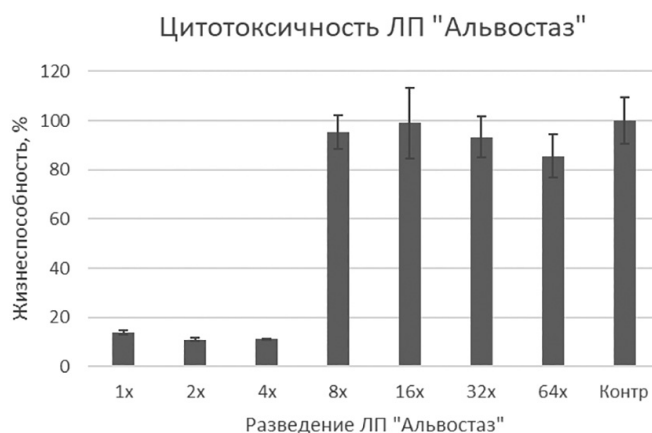


Рис. 3. Жизнеспособность дермальных фибробластов человека в присутствии вытяжки ЛП «Альвостаз» (МТТ-тест)

Fig. 3. Viability of human dermal fibroblasts in the presence of an extract of “Allostaz” (MTT test)

Влияние ЛП «Альвостаз» на продукцию ИЛ-6 фибробластами человека. Нестимулированные фибробласты демонстрируют отсутствие продукции цитокина ИЛ-6. Уменьшение концентраций ЛП «Альвостаз» в культуральной среде коррелирует с уменьшением продукции ИЛ-6 TNF- α -стимулированными фибробластами (рис. 4).

ИЛ-6 – цитокин плеiotропного действия, участвующий не только в воспалительных реакциях на инфекцию, но и в регуляции обменных и регенеративных процессов [12]. Плеiotропные биологические эффекты ИЛ-6 определяются уникальной сигнальной системой, включающей ИЛ-6-рецепторы (мембранный аналог IL-6R или цитоплазматический аналог sIL-6R) и сигнальные молекулы gp130 (см. рис. 1). При классической передаче сигналов ИЛ-6 стимулирует клетки-мишени через мембранно-связанный рецептор интерлейкина-6 (IL-6R), который экспрессируется только на некоторых клетках (макрофаги, нейтрофилы и др.). В кровяном русле и некоторых тканях присутствует растворимая (s) форма – sIL-6R, которая в комбинации с ИЛ-6 активирует транс-сигнальную активацию посредством связывания с рецептором gp130, который присутствует практически на всех клетках организма человека. Полагают, что транс-сигнализация в большей степени определяет патогенные эффекты ИЛ-6, чем классическая сигнализация [13].

Наши данные, к сожалению, не позволяют определить, какой из сигнальных каскадов – классический или транс-сигнальный – активируется в альвеолярном пространстве в присутствии ЛП «Альвостаз». Учитывая результаты клинических исследований, можно предположить, что наличие «Альвостаза» в альвеолярном пространстве приводит к активации ИЛ-6 классического каскада сигнальных реакций, которые опосредуют противовоспалительное и регенеративное действие препарата.

Влияние ЛП «Альвостаз» на продукцию MCP-1 фибробластами человека. Не стимулированные триггером воспаления фибробласты демонстрируют низкий конститутивный уровень продукции хемокина MCP-1. Однако в присутствии TNF- α продукция MCP-1 резко возрастает. Высокие дозы ($\times 8$) ЛП «Альвостаз» полностью ингибируют продукцию MCP-1 до уровня продукции контрольными нестимулированными фибробластами. Уменьшение ЛП «Альвостаз» ($\times 8$, $\times 16$, $\times 32$, $\times 64$) в культуральной среде приводит к дозозависимому увеличению синтеза MCP-1 (рис. 5).

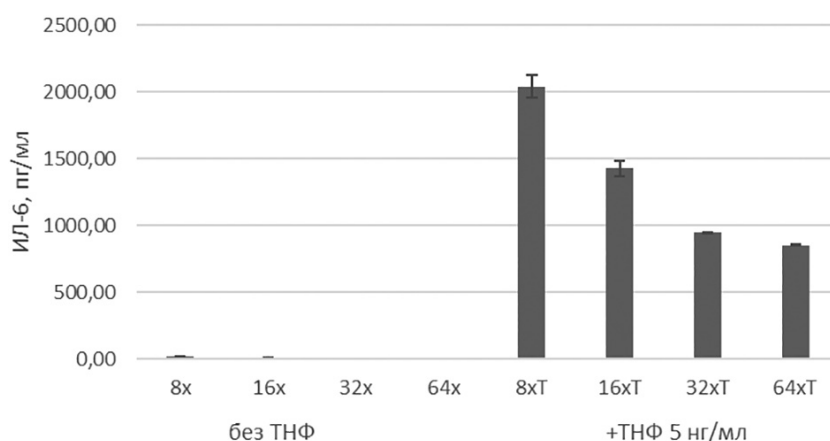


Рис. 4. ИФА-анализ ИЛ-6 в культуральной среде нестимулированных фибробластов (без TNF- α) и фибробластов, стимулированных триггером воспаления TNF- α (+TNF- α). Концентрация ИЛ-6 в культуральной среде фибробластов меняется в зависимости от степени разбавления вытяжки (разведения $\times 8$, $\times 16$, $\times 32$, $\times 64$).

С уменьшением дозы ЛП «Альвостаз» происходит уменьшение синтеза ИЛ-6, что указывает на корреляцию синтеза ИЛ-6 с наличием ЛП «Альвостаз»

Fig. 4. ELISA analysis of IL-6 in a culture medium of unstimulated fibroblasts (without TNF- α) and stimulated by the inflammatory trigger TNF- α (+TNF- α). The concentration of IL-6 in the fibroblast culture medium varies depending on the degree of dilution of the extract (8, $\times 16$, $\times 32$, $\times 64$ dilutions). With a decrease in the dose of “Alvostaz”, IL-6 synthesis decreases, which indicates a correlation of IL-6 synthesis with the presence of “Alvostaz”

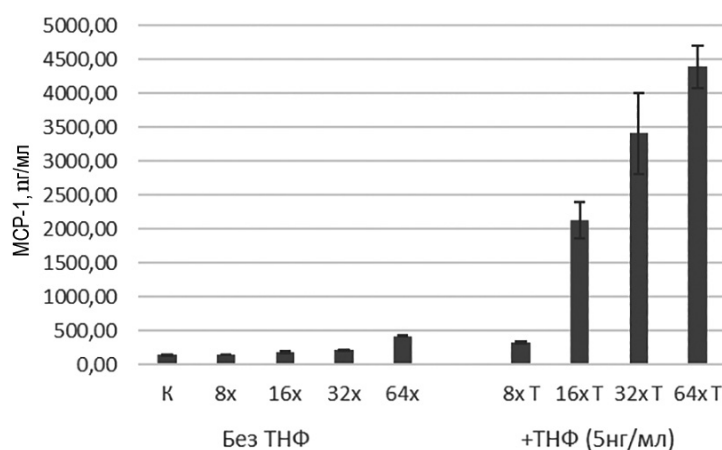


Рис. 5. ИФА-анализ МСР-1 в культуральной среде нестимулированных фибробластов (без TNF- α) и фибробластов, стимулированных триггером воспаления TNF- α (+TNF- α). Концентрация МСР-1 в культуральной среде фибробластов меняется в зависимости от степени разбавления вытяжки (разведения $\times 8$, $\times 16$, $\times 32$, $\times 64$)

Fig. 5. ELISA analysis of MCP-1 in a culture medium of unstimulated fibroblasts (Without TNF- α) and fibroblasts stimulated by the inflammatory trigger TNF- α (+TNF- α). The concentration of MCP-1 in the fibroblast culture medium varies depending on the degree of dilution of the extract ($\times 8$, $\times 16$, $\times 32$, $\times 64$ dilutions)

Таким образом, ЛП «Альвостаз» обладает МСР-1-ингибирующими характеристиками. В настоящее время для снятия воспалительного процесса ведется активный поиск антагонистов МСР-1, действие которых направлено на ограничение миграции лейкоцитов. Исследуются противовоспалительные свойства ингибирующих МСР-1 моноклональных антител, мутантных рекомбинантных форм МСР-1, ингибиторов вирусной природы и др. В клинической практике ЛП «Альвостаз» применяется как средство для профилактики и лечения альвеолита. Помещенный в альвеолярный отросток, ЛП «Альвостаз» быстро снимает воспаление и боль.

Заключение. Проведенные исследования продемонстрировали, что средство «Альвостаз-губка» является мощным ингибитором продукции хемокина МСР-1, что ограничивает миграцию клеток моноцитарного звена в зону периодонтального пространства и приводит к предотвращению воспалительного каскада, опосредуемого моноцитами/макрофагами. Параллельно с МСР-1-ингибирующим действием средство «Альвостаз-губка» стимулирует умеренную продукцию ИЛ-6. Основываясь на результатах клинических исследований, демонстрирующих ускоренное восстановление периодонтального комплекса, можно предположить, что умеренная стимуляция продукции ИЛ-6 опосредует классический ИЛ-6 каскад активации сигнальных молекул, который связан с противовоспалительным и регенеративным действием.

Анализ результатов проведенного лечения пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом средней степени тяжести с применением средства «Альвостаз-губка» позволяет повысить эффективность лечения и сократить сроки реабилитации пациентов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Ретроспективный анализ обращаемости пациентов с хроническим пародонтитом в лечебные учреждения стоматологического профиля г. Самары / А. М. Нестеров, М. И. Садыков, С. Е. Чигарина [и др.] // Проблемы стоматологии. – 2020. – Т. 16, № 1. – С. 75–80.
2. Междисциплинарный системный подход и концепция экспериментально-аналитического метода выбора материала и планирования конструкции с целью повышения эффективности лечения пародонтита / Н. Б. Асташина, Е. П. Рогожникова, А. Ф. Мерзляков, В. Н. Никитин // Пермский медицинский журнал. – 2021. – Т. 38, № 4. – С. 112–120.
3. Yucel-Lindberg, T. Inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontitis / T. Yucel-Lindberg, T. Båge // Expert Reviews in Molecular Medicine. – 2013. – Vol. 15. – P. e7. <https://doi.org/10.1017/erm.2013.8>
4. Ling, M. R. Peripheral blood neutrophil cytokine hyper-reactivity in chronic periodontitis / M. R. Ling, I. L. Chapple, J. B. Matthews // Innate Immunity. – 2015. – Vol. 21, N 7. – P. 714–725. <https://doi.org/10.1177/1753425915589387>

5. Impaired neutrophil directional chemotactic accuracy in chronic periodontitis patients / H. M. Roberts, M. R. Ling, R. Insall [et al.] // *Journal of Clinical Periodontology*. – 2015. – Vol. 42, N 1. – P. 1–11. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12326>
6. Baek, K. J. Gingival fibroblasts from periodontitis patients exhibit inflammatory characteristics *in vitro* / K. J. Baek, Y. Choi, S. Ji // *Archives of Oral Biology*. – 2013. – Vol. 58, N 10. – P. 1282–1292. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2013.07.007>
7. Interleukin-1 stimulates cytokines, prostaglandin E2 and matrix metalloproteinase-1 production via activation of MAPK/AP-1 and NF- κ B in human gingival fibroblasts / Y. Kida, M. Kobayashi, T. Suzuki [et al.] // *Cytokine*. – 2005. – Vol. 29, N 4. – P. 159–168. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2004.10.009>
8. Gingival and periodontal ligament fibroblasts differ in their inflammatory response to viable *Porphyromonas gingivalis* / N. Scheres, M. L. Laine, T. J. de Vries [et al.] // *Journal of Periodontal Research*. – 2010. – Vol. 45, N 2. – P. 262–270. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2009.01229.x>
9. Sokos, D. Role of periodontal ligament fibroblasts in osteoclastogenesis: a review / D. Sokos, V. Everts, T. J. de Vries // *Journal of Periodontal Research*. – 2015. – Vol. 50, N 2. – P. 152–159. <https://doi.org/10.1111/jre.12197>
10. Direct cell–cell contact between periodontal ligament fibroblasts and osteoclast precursors synergistically increases the expression of genes related to osteoclastogenesis / V. Bloemen, T. Schoenmaker, T. J. de Vries, V. Everts // *Journal of Cellular Physiology*. – 2010. – Vol. 222, N 3. – P. 565–573. <https://doi.org/10.1002/jcp.21971>
11. Клеточные тест-системы *in vitro* для поиска и сравнения ингибиторов TNF- α и IL-17A / Н. К. Осина, Е. И. Пугачев, Е. В. Орлов, Л. Т. Волова // *Биотехнология*. – 2022. – Т. 38, № 4. – С. 114–120.
12. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6 / J. Scheller, A. Chalaris, D. Schmidt-Arras, S. Rose-John // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Research*. – 2011. – Vol. 1813, N 5. – P. 878–888. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2011.01.034>
13. Rose-John, S. The soluble interleukin-6 receptor and related proteins / S. Rose-John // *Best Practice and Research. Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2015. – Vol. 29, N 5. – P. 787–797. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2015.07.001>

References

1. Nesterov A. M., Sadykov M. I., Chigarina S. E., Khaikin M. B., Trunin D. A. A retrospective analysis of the treatment of patients with chronic periodontitis in dental institutions in Samara. *Problemy stomatologii* [Problems of dentistry], 2020, vol. 16, no. 1, pp. 75–80 (in Russian).
2. Astashina N. B., Rogozhnikova E. P., Merzlyakov A. F., Nikitin V. N. Interdisciplinary system approach and concept of experimental and analytical method of material selection and design planning in order to improve effectiveness of periodontitis treatment. *Permskii meditsinskii zhurnal* [Perm medical journal], 2021, vol. 38, no. 4, pp. 112–120 (in Russian).
3. Yucel-Lindberg T., Båge T. Inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontitis. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 2013, vol. 15, p. e7. <https://doi.org/10.1017/erm.2013.8>
4. Ling M. R., Chapple I. L., Matthews J. B. Peripheral blood neutrophil cytokine hyper-reactivity in chronic periodontitis. *Innate Immunity*, 2015, vol. 21, no. 7, pp. 714–725. <https://doi.org/10.1177/1753425915589387>
5. Roberts H. M., Ling M. R., Insall R., Kalna G., Spengler J., Grant M. M., Chapple I. L. Impaired neutrophil directional chemotactic accuracy in chronic periodontitis patients. *Journal of Clinical Periodontology*, 2015, vol. 42, no. 1, pp. 1–11. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12326>
6. Baek K. J., Choi Y., Ji S. Gingival fibroblasts from periodontitis patients exhibit inflammatory characteristics *in vitro*. *Archives of Oral Biology*, 2013, vol. 58, no. 10, pp. 1282–1292. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2013.07.007>
7. Kida Y., Kobayashi M., Suzuki T., Takeshita A., Okamatsu Y., Hanazawa S., Yasui T., Hasegawa K. Interleukin-1 stimulates cytokines, prostaglandin E2 and matrix metalloproteinase-1 production via activation of MAPK/AP-1 and NF- κ B in human gingival fibroblasts. *Cytokine*, 2005, vol. 29, no. 4, pp. 159–168. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2004.10.009>
8. Scheres N., Laine M. L., de Vries T. J., Everts V., van Winkelhoff A. J. Gingival and periodontal ligament fibroblasts differ in their inflammatory response to viable *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of Periodontal Research*, 2010, vol. 45, no. 2, pp. 262–270. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2009.01229.x>
9. Sokos D., Everts V., de Vries T. J. Role of periodontal ligament fibroblasts in osteoclastogenesis: a review. *Journal of Periodontal Research*, 2015, vol. 50, no. 2, pp. 152–159. <https://doi.org/10.1111/jre.12197>
10. Bloemen V., Schoenmaker T., de Vries T. J., Everts V. Direct cell–cell contact between periodontal ligament fibroblasts and osteoclast precursors synergistically increases the expression of genes related to osteoclastogenesis. *Journal of Cellular Physiology*, 2010, vol. 222, no. 3, pp. 565–573. <https://doi.org/10.1002/jcp.21971>
11. Osina N. K., Pugachev E. I., Orlov E. V., Volova L. T. *In vitro* cell test systems for the search and comparison of TNF- α and IL-17A inhibitors. *Biotechnologiya* [Biotechnology], 2022, vol. 38, no. 4, pp. 114–120 (in Russian).
12. Scheller J., Chalaris A., Schmidt-Arras D., Rose-John S. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Research*, 2011, vol. 1813, no. 5, pp. 878–888. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2011.01.034>
13. Rose-John S. The soluble interleukin-6 receptor and related proteins. *Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2015, vol. 29, no. 5, pp. 787–797. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2015.07.001>

Информация об авторах

Постников Михаил Александрович – д-р мед. наук, заведующий кафедрой. Самарский государственный медицинский университет (ул. Гагарина, 18А, 443079, г. Самара, Российская Федерация). <https://orcid.org/0000-0002-2232-8870>. E-mail: m.a.postnikov@samsmu.ru

Рубников Сергей Петрович – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, ректор. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Держинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0002-7450-3757>. E-mail: rubnikovich@mail.ru

Батталова Юлия Нурсахиевна – врач стоматолог-терапевт. Национальный медицинский исследовательский центр высоких медицинских технологий – Центральный военный клинический госпиталь имени А. А. Вишневого Министерства обороны Российской Федерации (ул. Маршала Бирюзова, 1, 143003, г. Москва, Российская Федерация). <https://orcid.org/0009-0000-2378-0378>. E-mail: battalovastoma@yandex.ru

Денисова Юлия Леонидовна – д-р мед. наук, профессор. Белорусский государственный медицинский университет (ул. Сухая, 28, 220004, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0003-0917-7972>. E-mail: periostom@bsmu.by

Волова Лариса Теодоровна – д-р мед. наук, профессор, директор биотехнологического центра «Биотех» Самарского государственного медицинского университета (ул. Гагарина, 18А, 443079, г. Самара, Российская Федерация). <https://orcid.org/0000-0002-8510-3118>. E-mail: l.t.volova@samsmu.ru

Осина Наталья Константиновна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Научно-исследовательский институт биотехнологии Самарского государственного медицинского университета (ул. Гагарина, 20, 443079, г. Самара, Российская Федерация). <https://orcid.org/0000-0002-0444-8174>. E-mail: n.k.osina@samsmu.ru

Свечникова Мария Вячеславовна – канд. мед. наук, доцент. Самарский государственный медицинский университет (ул. Гагарина, 18А, 443079, г. Самара, Российская Федерация). <https://orcid.org/0000-0002-8450-7399>. E-mail: umka86@list.ru

Постникова Елизавета Михайловна – аспирант. Самарский государственный медицинский университет (ул. Чапаевская, 89, 443001, г. Самара, Российская Федерация). <https://orcid.org/0000-0002-5989-1704>. E-mail: postnikova.e.m@gymnlsam.ru

Information about the authors

Mikhail A. Postnikov – D. Sc. (Med.), Head of the Department. Samara State Medical University (18A, Gagarin Str., 443079, Samara, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0002-2232-8870>. E-mail: m.a.postnikov@samsmu.ru

Sergey P. Rubnikovich – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, Rector. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0002-7450-3757>. E-mail: rubnikovich@mail.ru

Yulia N. Battalova – General Dentist. National Medical Research Center for High Medical Technologies – Central Military Clinical Hospital named after A. A. Vishnevsky of the Ministry of Defense of the Russian Federation (1, Marshal Biryuzov Str., 143003, Moscow, Russian Federation). <https://orcid.org/0009-0000-2378-0378>. E-mail: battalovastoma@yandex.ru

Yulia L. Denisova – D. Sc. (Med.), Professor. Belarusian State Medical University (28, Sukhaya Str., 220004, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0003-0917-7972>. E-mail: periostom@bsmu.by

Larisa T. Volova – D. Sc. (Med.), Professor, Director of the Biotech Center of Samara State Medical University (18A, Gagarin Str., 443079, Samara, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0002-8510-3118>. E-mail: l.t.volova@samsmu.ru

Natalia K. Osina – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. Scientific Research Institute of Biotechnology, Samara State Medical University (20, Gagarin Str., 443079, Samara, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0002-0444-8174>. E-mail: n.k.osina@samsmu.ru

Maria V. Svechnikova – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Samara State Medical University (18A, Gagarin Str., 443079, Samara, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0002-8450-7399>. E-mail: umka86@list.ru

Elizaveta M. Postnikova – Postgraduate student. Samara State Medical University (89, Chapaevskaya Str., 443001, Samara, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0002-5989-1704>. E-mail: postnikova.e.m@gymnlsam.ru

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК [616.379-008.64-06+616.44]-053.2

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-4-332-343>

Поступила в редакцию 01.04.2025

Received 01.04.2025

**Н. В. Волкова^{1,2}, Е. А. Аксёнова³, А. В. Солнцева^{1,4}, В. М. Жарич³,
В. В. Александрович³, М. Г. Синявская³**

¹Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь²2-я городская детская клиническая больница, Минск, Республика Беларусь³Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь⁴Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ *MICA* И *CTLA-4* С РИСКОМ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ДЕТЕЙ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1-ГО ТИПА

Аннотация. *CTLA-4* и *MICA* являются общими генами-кандидатами сахарного диабета (СД) 1-го типа и аутоиммунных тиреоидных заболеваний (АИТЗ). Результаты исследований связи полиморфных вариантов СТ60 (+6230G>A) (rs3087243) гена *CTLA-4* и STR в 5-м экзоне гена *MICA* с восприимчивостью к аутоиммунным эндокринопатиям значительно варьируются в разных странах. Представляло интерес генотипирование детей с изолированным СД 1-го типа и в сочетании с АИТЗ (аутоиммунным полигланулярным синдромом 3а типа – АПС 3а типа) для установления генетических маркеров риска тиреопатий у детей с СД 1-го типа в Беларуси.

В работе определены частоты аллелей и генотипов rs3087243 гена *CTLA-4* и STR в 5-м экзоне гена *MICA* у детей с АПС 3а типа ($n = 52$), СД 1-го типа ($n = 95$) и в контрольной группе ($n = 40$).

У детей с АПС 3а типа значительно чаще регистрировали генотип GG по rs3087243 гена *CTLA-4*, чем у пациентов с СД 1-го типа (GG vs AA/AG: ОШ = 5,06 (1,12–22,97)) и в группе контроля (GG vs AA/AG: ОШ = 5,30 (1,04–27,12)). Установлено, что генотип A5.1/5.1 по STR в 5-м экзоне гена *MICA* связан с повышенной вероятностью сочетанного развития СД 1-го типа и АИТЗ (ОШ = 3,65 (1,10–12,05), $F_{дв} = 0,05$, $p = 0,037$). Выявлена ассоциация аллеля *MICA*-A9 с предрасположенностью к АПС 3а типа у девочек с СД 1-го типа (ОШ = 2,60 (1,17–5,74)), в особенности сопровождающегося наиболее тяжелыми формами тиреоидной патологии: манифестным гипотиреозом (ОШ = 6,42 (1,70–24,24)) и гипертрофией щитовидной железы (ОШ = 7,78 (1,81–33,38)).

Полученные данные позволяют выделить генотип GG по rs3087243 гена *CTLA-4* как фактор риска АПС 3а типа у детей с СД 1-го типа; носительство аллеля *MICA*-A9 – как фактор риска АИТЗ с манифестным гипотиреозом и зобом у девочек с СД 1-го типа.

Ключевые слова: сахарный диабет 1-го типа, аутоиммунный полигланулярный синдром 3а типа, генетический полиморфизм, дети, *MICA*, *CTLA-4*

Для цитирования: Ассоциация полиморфизмов генов *MICA* и *CTLA-4* с риском аутоиммунных заболеваний щитовидной железы у детей с сахарным диабетом 1-го типа / Н. В. Волкова, Е. А. Аксёнова, А. В. Солнцева [и др.] // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2025. – Т. 22, № 4. – С. 332–343. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-4-332-343>

**Natalya V. Volkova^{1,2}, Elena A. Aksenova³, Angelika V. Solntseva^{1,4}, Victor M. Zharich³,
Valeria V. Aleksandrovich³, Maryna G. Siniauskaya³**

¹Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus²2nd City Children's Clinical Hospital, Minsk, Republic of Belarus³Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus⁴Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Borovlyany v., Minsk region, Republic of Belarus

ASSOCIATION OF *MICA* AND *CTLA-4* GENE POLYMORPHISMS WITH THE RISK OF AUTOIMMUNE THYROID DISEASES IN CHILDREN WITH TYPE 1 DIABETES

Abstract. *CTLA-4* and *MICA* are common candidate genes for type 1 diabetes (T1D) and autoimmune thyroid diseases (AITD). The data concerning the association of CT60 (+6230G>A) (rs3087243) polymorphism within the *CTLA-4* gene and the short tandem repeats (STR) in exon 5 of the *MICA* gene with autoimmune endocrinopathies are distinct in different populations. This work was aimed to reveal the alleles and genotypes associated with a predisposition to AITD in children with T1D in Belarus.

We investigated the allele and genotype frequencies of *CTLA-4* rs3087243 and the STR in exon 5 of *MICA* in children diagnosed with autoimmune polyglandular syndrome (APS) type 3a ($n = 52$), T1D ($n = 95$) and control group ($n = 40$).

A comparative analysis of the genotype distribution of *CTLA-4* rs3087243 polymorphism showed that children with APS type 3a were significantly more likely to have the GG genotype compared with patients with T1D (OR = 5.06 (1.12–22.97)) and the control group (OR = 5.30 (1.04–27.12)). It was found that *MICA*-A5.1/5.1 genotype is associated with an increased risk of the combined development of T1D and AITD (OR = 3.65 (1.10–12.05)). We revealed the association of the *MICA*-A9 allele with a predisposition to APS type 3a in girls with T1D (OR = 2.60 (1.17–5.74)), especially with the most severe thyroid pathology: overt hypothyroidism (OR = 6.42 (1.70–24.24)) and thyroid hypertrophy (OR = 7.78 (1.81–33.38)).

The obtained data identify the GG genotype at rs3087243 (*CTLA-4*) as a risk factor for APS type 3a in children with T1D; and the *MICA*-A9 allele – for AITD with overt hypothyroidism and goiter in girls with T1D.

Keywords: type 1 diabetes mellitus, autoimmune polyglandular syndrome type 3a, genetic polymorphism, children, *MICA*, *CTLA-4*

For citation: Volkova N. V., Aksenova E. A., Solntseva A. V., Zharich V. M., Aleksandrovich V. V., Siniauskaya M. G. Association of *MICA* and *CTLA-4* gene polymorphisms with the risk of autoimmune thyroid diseases in children with type 1 diabetes. *Vesti Natsyonal'noi akademii nauk Belarusi. Seriya medytsynskikh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2025, vol. 22, no. 4, pp. 332–343 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-4-332-343>

Введение. Неклассические молекулы главного комплекса гистосовместимости I класса МНС (MHC class I chain-related proteins) кодируются в области МНС класса I хромосомы 6p21.3. Известно, что из семи генов, обозначенных как *MICA–MIGC*, только *MICA* и *MICB* являются функциональными [1].

Белки *MICA* имеют ограниченное распространение в здоровых тканях. Их экспрессия усиливается в стрессовых условиях, таких как аутоиммунные заболевания, повреждение ДНК, ишемическое и реперфузионное повреждение, вирусные инфекции [1]. *MICA* выполняют функцию лигандов для активирующего лектиноподобного рецептора NKG2D на натуральных киллерах (NK) и CD8+ Т-лимфоцитах. Передача сигналов NKG2D индуцирует естественную цитотоксичность NK-клеток и уничтожение клеток-мишеней [1].

MICA является наиболее полиморфным неклассическим геном МНС класса I. В настоящее время известно 585 аллелей, кодирующих 278 вариантов белка [2]. Полиморфизмы в гене *MICA* могут влиять на экспрессию белка, его высвобождение в кровотоки и сродство к рецептору NKG2D [3]. Стандартизированная номенклатура международной иммуногенетической базы данных IMGT (ImMunoGeneTics information) гена *MICA* основана на полиморфизмах в области 2–4-го экзона, которые кодируют три внеклеточных домена белка *MICA* – $\alpha 1$, $\alpha 2$ и $\alpha 3$. Согласно ей, каждому аллелю гена *MICA* присвоен порядковый трехзначный номер, например *MICA**007 [3, 4]. Во многих исследованиях используется еще одна классификация полиморфизмов гена *MICA*, основанная на длине трансмембранного домена, кодируемого в 5-м экзоне. Экзон 5 может содержать переменное количество тринуклеотидных повторов GCT (от 4 до 10). Соответствующие аллели обозначены как A4–A10 и называются микросателлитными, или аллелями STR (англ. *short tandem repeats* – короткие тандемные повторы). Каждый микросателлитный аллель с определенной длиной трансмембранного домена объединяет ряд аллелей по номенклатуре IMGT [3, 4].

MICA является геном-кандидатом ряда аутоиммунных заболеваний. Так, установлена ассоциация аллеля A6 с болезнью Бехчета [5]; A4 – с анкилозирующим спондилитом [6]; A9 – с псориазом и псориатическим артритом [7]; A5.1 – с системной красной волчанкой (СКВ) [6], целиакией [8], алопецией [9].

По данным исследований, проведенных в разных странах, различные аллели STR гена *MICA* отмечены как потенциальные факторы риска развития СД 1-го типа. Так, в ряде европейских стран наличие аллеля A5 связывали с предрасположенностью к заболеванию [10, 11], в то время как в Индии данный аллель чаще выявлялся в контрольной группе, чем у пациентов с СД 1-го типа [8]. Есть сообщения об ассоциации с СД 1-го типа аллеля A5.1 в Индии и Швеции [8, 11], *MICA*-A9 – в Китае [12].

Сведения о взаимосвязи полиморфизмов гена *MICA* с аутоиммунными тиреоидными заболеваниями (АИТЗ) также достаточно разнородны. В Корее W. K. Cho с соавт. (2012) выявлена более высокая частота аллеля *MICA**010 (относится к *MICA*-A5) у детей с аутоиммунными тиреопатиями, чем у здоровых сверстников. Следует отметить, что у корейцев, в отличие от европейцев, доминирующим аллелем является *MICA**010. В то же время аллель A5 показал защитный эффект в отношении аутоиммунной офтальмопатии [13].

В исследовании, выполненном в Германии, выявлена ассоциация аллеля A9 и генотипа A5.1/9 с аутоиммунным тиреоидитом (АИТ), а генотипа A5.1/5.1 – с болезнью Грейвса [14]. В другой работе немецких ученых обнаружена более высокая частота аллеля 5.1 и генотипа A5.1/5.1 у пациентов с полигландулярными аутоиммунными поражениями (сочетание СД 1-го типа с АИТ или болезнью Грейвса) по сравнению с группой контроля и лицами с одиночными заболеваниями (СД 1-го типа, АИТ, болезнь Грейвса) [15].

Ген *CTLA-4* (антиген-4, ассоциированный с цитотоксическими Т-лимфоцитами) расположен на хромосоме 2q33. CTLA-4 имеет важное значение для работы Т-регуляторных клеток и является одной из ключевых молекул, обеспечивающих формирование периферической толерантности. Белок представляет собой гомолог костимулирующей Т-клеточной молекулы CD28, которая при взаимодействии с молекулами CD80 и CD86 (B7) на антиген-презентирующей клетке участвует в представлении антигена и активации Т-лимфоцитов. CTLA-4 также является рецептором к молекулам B7, но, в отличие от CD28, не инициирует активационный сигнал [16].

СТ60 (rs3087243) гена *CTLA-4* является одним из полиморфизмов, ассоциированных с аутоиммунными заболеваниями, патогенез которых опосредован Т-клетками. Предполагается, что замена +6230G>A влияет на экспрессию растворимой изоформы CTLA-4 (sCTLA-4) [17]. Группой польских ученых установлена ассоциация аллеля G с повышенным уровнем растворимой изоформы CTLA-4 (sCTLA-4) при болезни Грейвса, особенно в случаях тяжелого течения заболевания [18]. Вероятно, конкурентное связывание sCTLA-4 с молекулами B7 нарушает взаимодействие с полноразмерной формой CTLA-4, блокируя тем самым ее сигнал. В свою очередь, это может повлиять на баланс супрессивной и эффекторной активности Т-регуляторных клеток, который тесно связан с патогенезом аутоиммунных заболеваний [19].

Вовлеченность rs3087243 гена *CTLA-4* в формирование предрасположенности к СД 1-го типа в настоящее время остается спорной. В мета-анализе K. Wang с соавт. сообщалось, что полиморфизм СТ60 гена *CTLA-4* в европеоидных, ближневосточных и индийских популяциях связан с риском СД 1-го типа [20]. Однако такая закономерность не выявлена в Германии [21].

Доказана ассоциация rs3087243 гена *CTLA-4* с болезнью Грейвса в европейской и азиатской популяциях [22]. В то же время результаты мета-анализа продемонстрировали связь указанного полиморфизма с риском развития тиреоидита Хашимото только у азиатов, при этом данная ассоциация выявлена только у взрослых [23].

В литературе есть данные о влиянии полиморфизма СТ60 гена *CTLA-4* на вероятность сочетанного развития СД 1-го типа и АИТЗ. В исследовании, проведенном в Германии, показано увеличение риска АПС 3-го типа у носителей генотипа GG по сравнению с группой контроля [21].

Таким образом, результаты исследования ассоциации полиморфных вариантов rs3087243 гена *CTLA-4* и STR гена *MICA* с восприимчивостью к аутоиммунным эндокринопатиям значительно варьируются в разных странах и возрастных группах.

Цель работы – сравнительный анализ частот аллелей и генотипов rs3087243 гена *CTLA-4* и STR гена *MICA* в группах детей с аутоиммунным полигландулярным синдромом 3а типа и сахарным диабетом 1-го типа между собой и в сравнении с контрольной группой в Беларуси.

Материалы и методы исследования. Для проведения поперечного исследования «случай–контроль» на базе 2-й городской детской клинической больницы г. Минска были сформированы две группы пациентов: 52 ребенка с АПС 3а типа (сочетание СД 1-го типа и АИТ ($n = 50$) или болезни Грейвса ($n = 2$)) – основная группа; 95 детей с изолированным СД 1-го типа – группа сравнения. В основную группу были включены 35 девочек и 17 мальчиков в возрасте 12,3 (10,2–15,4) года; в группу сравнения – 40 девочек и 55 мальчиков в возрасте 11,6 (9,3–14,3) года. Контрольную группу составили условно здоровые дети, не имеющие нарушений углеводного обмена и заболеваний щитовидной железы ($n = 40$, 19 девочек и 21 мальчик в возрасте 12,9 (11,0–14,3) года). Критерием манифестного гипотиреоза являлось повышение уровня тиреотропного гормона (ТТГ) более 10 мкМЕ/мл или потребность в заместительной дозе левотироксина ≥ 1 мкг/кг/сут, необходимой для достижения целевых показателей ТТГ. Оценка объема щитовидной железы проведена по результатам ультразвукового исследования с учетом физического развития пациентов [24].

Сбор биологического материала осуществляли после получения письменного информированного согласия и одобрения проведения исследований этическим комитетом. Материалом исследования являлась геномная ДНК, выделенная методом фенол-хлороформной экстракции из сухих пятен нативной венозной крови, нанесенных на фильтровальную бумагу, и буккального эпителия (для контрольной группы).

Молекулярно-генетическое исследование выполнено на базе ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси». Для генотипирования однонуклеотидного полиморфизма rs3087243 гена *CTLA-4* использована технология TaqMap (праймеры и зонды разработаны авторами), анализ результатов проведен в программном обеспечении BioRad CFXManager™. Микросателлитный повтор в 5-м экзоне гена *MICA* исследован методом ПЦР с праймерами, предложенным M. Gupta с коллегами [25]. Дифференциация продуктов амплификации проведена на генетическом анализаторе ABI PRISM® Genetic Analyzer 3500 (Applied Biosystems, США), обработка результатов выполнена в программе GeneMapper® Software, version 5.1.

Анализ результатов исследования проводили с использованием MS EXCEL и статистического пакета STATSOFT STATISTICA 10.0 для Windows. Для сравнительного анализа распределения частот аллелей генотипов в группах пациентов вычисляли χ^2 , при количестве наблюдений менее 10 рассчитывали критерий χ^2 с поправкой Йетса ($\chi^2_{\text{Й}}$), при 5 и менее – точный критерий Фишера (Фдв). Для количественной оценки ассоциаций использовали показатель отношения шансов (ОШ) и рассчитывали 95%-й доверительный интервал (95 % ДИ). Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. В табл. 1 представлены частоты аллелей по микросателлитным повторам в 5-м экзоне гена *MICA*. Всего было выявлено 6 типов аллелей в исследуемых группах: А4 (179 н. о.), А5 (182 н. о.), А5.1 (183 н. о.), А6 (185 н. о.), А8 (191 н. о.) и А9 (194 н. о.). Самым распространенным во всех группах был аллель А5.1, что согласуется с показателями европейских популяций [3].

Таблица 1. Распределение частот аллелей по микросателлитным повторам (STR-локусу) в 5-м экзоне гена *MICA* в исследуемых группах, n (%)

Table 1. Distribution of allele frequencies at STR-locus in exon 5 of the *MICA* gene in the studied groups, n (%)

Аллель	АПС 3а типа	СД 1-го типа	Контроль	Стат. значимость различий
А4	10 (9,6)	21 (11,1)	12 (16,3)	$\chi^2_{1-2} = 0,15, p = 0,701$ $\chi^2_{1-3} = 1,25, p = 0,264$ $\chi^2_{2-3} = 0,82, p = 0,366$
А5	7 (6,7)	22 (11,6)	10 (12,5)	$\chi^2_{1-2} = 1,78, p = 0,183$ $\chi^2_{1-3} = 1,79, p = 0,180$ $\chi^2_{2-3} = 0,05, p = 0,831$
А5.1	48 (46,2)	83 (43,7)	32 (40,0)	$\chi^2_{1-2} = 0,17, p = 0,684$ $\chi^2_{1-3} = 0,70, p = 0,404$ $\chi^2_{2-3} = 0,31, p = 0,576$
А6	13 (12,5)	31 (16,3)	10 (12,5)	$\chi^2_{1-2} = 0,77, p = 0,381$ $\chi^2_{1-3} = 0,01, p = 0,919$ $\chi^2_{2-3} = 0,0, p = 1,00$
А9	26 (25,0)	33 (17,4)	15 (18,8)	$\chi^2_{1-2} = 2,44, p = 0,113$ $\chi^2_{1-3} = 1,02, p = 0,313$ $\chi^2_{2-3} = 0,07, p = 0,786$

В результате сравнительного анализа частоты аллелей между исследуемыми группами статистически значимых различий не установлено.

На рис. 1 представлено распределение частот генотипов по STR-локусу гена *MICA*. Те генотипы, которые встречались с частотой <5 % в каждой из трех групп, были сгруппированы вместе. Выявлена значительно более высокая распространенность генотипа А5.1/А5.1 у детей с АПС 3а типа (28,8 %) по сравнению с группой контроля (10,0 %) (ОШ = 3,65 (1,10–12,05), Фдв = 0,05,

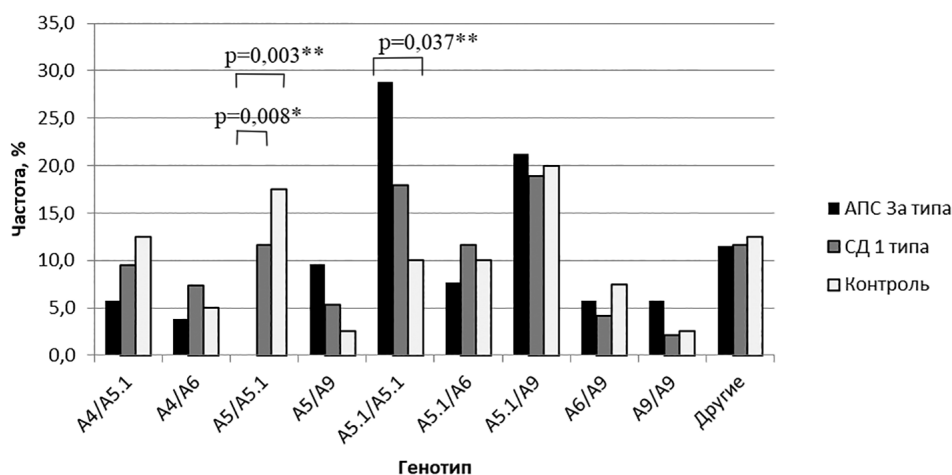


Рис. 1. Распределение частот генотипов по STR-локусу в 5-м экзоне гена *MICA* в исследуемых группах. Различия между пациентами: * – с АПС 3а типа и СД 1-го типа; ** – с АПС 3а типа и контролем

Fig. 1. Distribution of genotype frequencies at STR-locus in exon 5 of the *MICA* gene in the studied groups. Differences between patients: * – with APS type 3a and T1D; ** – with APS type 3a and controls

$p = 0,037$). В то же время не обнаружено значимых различий в частоте данного генотипа между группами АПС 3а типа и СД 1-го типа ($p = 0,124$) и СД 1-го типа и группой контроля ($p = 0,306$). Полученные данные свидетельствуют, что генотип A5.1/A5.1 является маркером риска сочетанного развития СД 1-го типа и АИТЗ, но не может быть использован как предиктор аутоиммунных тиреопатий у пациентов с СД 1-го типа. Отмечена сопоставимая частота указанного генотипа в основной группе у девочек (25,7 %) и мальчиков (35,3 %).

Наши результаты согласуются с данными двух немецких исследований, в одном из которых выявлена ассоциация генотипа A5.1/A5.1 с болезнью Грейвса [14], а в другом – с полигlandулярными аутоиммунными поражениями (сочетание СД 1-го типа с АИТ или болезнью Грейвса) по сравнению с группой контроля и лицами с одиночными заболеваниями (СД 1-го типа, АИТ, болезнь Грейвса) [15].

Известно, что аллоформа A5.1 белка *MICA* имеет усеченный трансмембранный участок вследствие дополнительной вставки гуанина, а также сдвига рамки считывания и раннего образования стоп-кодона [3]. Возможным механизмом, объясняющим связь гомозиготного носительства аллеля A5.1 с аутоиммунными заболеваниями, является то, что его продукт первоначально синтезируется в виде растворимого белка (sMICA) и секретируется путем экзоцитоза, в то время как белки *MICA* других аллелей высвобождаются в результате протеолитического высвобождения металлопротеиназами [26]. Носительство аллеля A5.1 приводит к увеличению сывороточного содержания растворимой формы *MICA* [3]. S. T. Cox с соавт. установили, что некоторые растворимые лиганды NKG2D (sMICB, sULBP1) при взаимодействии с рецептором NKG2D способны снижать цитотоксичность НК-клеток по механизму обратной связи [27]. Несмотря на предположение, что образцы плазмы, содержащие sMICA, аналогичным образом снижают функцию НК-клеток, получен противоположный результат. Выявлено значительное увеличение продукции интерферона- γ (IFN- γ) и экспрессии CD107a и NKG2D на НК-клетках после взаимодействия с плазмой с большей концентрацией sMICA, что свидетельствовало об усилении цитотоксичности НК-клеток и их способности индуцировать воспаление. Эти результаты можно объяснить различием свойств изученных лигандов NKG2D и особенностями их взаимодействия с NKG2D. Растворимые MICB и ULBP1 обладают высоким сродством к NKG2D и передают сильный подавляющий сигнал НК-клеткам. Напротив, слабое сродство sMICA к NKG2D обуславливает снижение суммарного подавляющего сигнала, поступающего в НК-клетку, что позволяет ей активироваться [28].

Кроме того, трансмембранный участок играет роль в физиологической локализации белка *MICA* в клетках: полноразмерные молекулы имеют базолатеральное расположение, в то время

как аллоформа A5.1 – апикальное. Предполагается, что изменение положения белка MICA впоследствии может привести к нарушению нормальной активации НК-клеток и изменению иммунного ответа. По-видимому, этот эффект возникает только в том случае, если аллель *MICA* A5.1 находится в гомозиготной форме, поскольку он является наиболее распространенным в европейских странах [3, 14].

В нашем исследовании генотип A5/A5.1 выявлен у 17,5 % детей группы контроля, у 11,6 % пациентов с СД 1-го типа ($p > 0,05$) и не обнаружен у детей с АПС 3а типа. Отмечены статистически значимые различия между частотой данного генотипа у пациентов с АПС 3а типа и СД 1-го типа ($F_{дв} = 0,04$, $p = 0,008$) и контролем ($F_{дв} = 0,11$, $p = 0,002$). На основании этих данных можно предположить, что генотип A5/A5.1 может обладать протективным эффектом по отношению к риску формирования АПС 3а типа. Указанные различия по сравнению с основной группой выявлены только у девочек: в группе СД 1-го типа частота генотипа A5/A5.1 составила 20,0 % ($F_{дв} = 0,10$, $p = 0,006$), в группе контроля – 26,3 % ($F_{дв} = 0,19$, $p = 0,004$).

В литературе нет данных о защитном действии генотипа A5/A5.1 для АПС 3а типа, однако в работе, выполненной в Германии, зарегистрирована тенденция к более низкой распространенности данного генотипа среди пациентов с АИТЗ (АИТ и болезнью Грейвса) – 6,4 % (в группе контроля – 12,1 % (ОШ = 0,50 (0,24–1,03), $p = 0,057$) [14].

У девочек с АПС 3а типа выявлена значительно более высокая частота аллеля A9 (31,4 %), чем в группе сравнения (15,0 %) (ОШ = 2,60 (1,17–5,74), $p = 0,017$) (табл. 2).

Таблица 2. Распределение частот аллелей по STR-локусу в 5-м экзоне гена *MICA* у девочек исследуемых групп, n (%)

Table 2. Distribution of allele frequencies at STR-locus in exon 5 of the *MICA* gene in girls in the studied groups, n (%)

Аллель	АПС 3а типа	СД 1-го типа	Контроль	Стат. значимость различий
A4	7 (10,0)	8 (10,0)	3 (7,9)	$\chi^2_{1-2} = 0,0, p = 1,0$ $\chi^2_{1-3} = 0,13, p = 0,719$ $\chi^2_{2-3} = 0,14, p = 0,713$
A5	4 (5,7)	15 (18,8)	7 (18,4)	$F_{дв1-2} = 0,04, p = 0,025$ $F_{дв1-3} = 0,04, p = 0,049$ $\chi^2_{2-3} = 0,04, p = 0,834$
A5.1	30 (42,9)	30 (37,5)	17 (44,7)	$\chi^2_{1-2} = 0,45, p = 0,504$ $\chi^2_{1-3} = 0,04, p = 0,851$ $\chi^2_{2-3} = 0,56, p = 0,453$
A6	7 (10,0)	15 (18,8)	5 (13,2)	$\chi^2_{1-2} = 1,64, p = 0,201$ $F_{дв1-3} = 0,00, p = 0,750$ $F_{дв2-3} = 0,00, p = 0,601$
A9	22 (31,4)	12 (15,0)	6 (15,8)	$\chi^2_{1-2} = 5,75, p = 0,017$ $\chi^2_{1-3} = 2,38, p = 0,123$ $\chi^2_{2-3} = 0,03, p = 0,871$

Установлены достоверные различия распространенности носительства аллеля *MICA*-A9 у пациенток с сочетанием СД 1-го типа и АИТ с манифестным гипотиреозом (73,3 %) по сравнению со сверстницами с изолированным СД 1-го типа (30,0 %, ОШ = 6,42 (1,70–24,24), $F_{дв} = 0,15$, $p = 0,005$) и группой контроля (31,6 %, ОШ = 5,96 (1,33–26,66), $F_{дв} = 0,17$, $p = 0,037$) (рис. 2).

Отмечена более высокая доля носительства аллеля *MICA*-A9 у девочек с АПС 3а типа с гипертрофией щитовидной железы (76,9 %), чем в группах сравнения (ОШ = 7,78 (1,81–33,38), $F_{дв} = 0,17$, $p = 0,004$) и контроля (ОШ = 7,22 (1,44–36,23), $F_{дв} = 0,20$, $p = 0,029$) (рис. 3).

Таким образом, у девочек с СД 1-го типа установлена ассоциация аллеля A9 гена *MICA* с наиболее тяжелыми формами АИТЗ, сопровождающиеся развитием манифестного гипотиреоза и формированием зоба.

В литературе есть сообщение о более высокой частоте аллеля A9 гена *MICA* у пациентов с АИТ по сравнению с контрольной группой (исследования проведены в Германии) [14]. В Японии

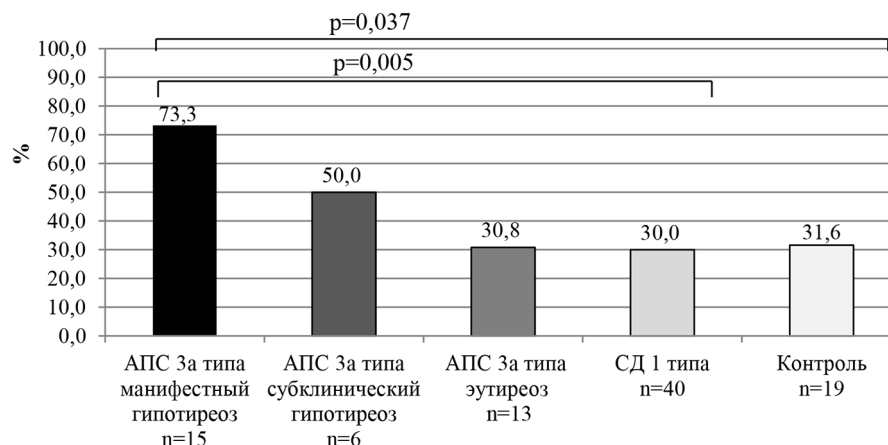


Рис. 2. Распространенность носительства аллеля *MICA-A9* у девочек с АПС 3а типа с разным тиреоидным статусом, с СД 1-го типа и в группе контроля

Fig. 2. Prevalence of *MICA-A9* allele in girls with APS type 3a and different thyroid status, T1D and in the control group

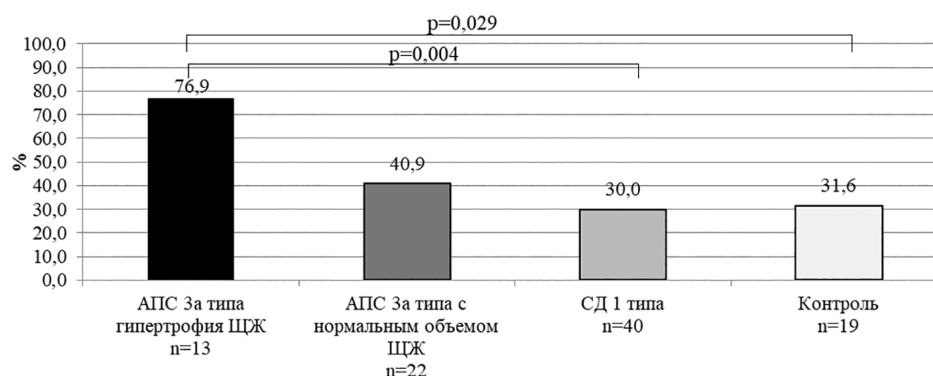


Рис. 3. Распространенность носительства аллеля *MICA-A9* у девочек с АПС 3а типа в зависимости от наличия гипертрофии щитовидной железы, СД 1-го типа и в группе контроля

Fig. 3. Prevalence of *MICA-A9* allele in girls with APS type 3a, depending on the presence of thyroid hypertrophy, T1D, and in the control group

при изучении связи полиморфизмов гена *MICA* с предрасположенностью к СКВ установлено, что инкубация протеина *MICA-A9* с НК-клетками приводит к более выраженному снижению экспрессии на них *NKG2D* и цитотоксичности по сравнению с *A5*. В то же время зарегистрировано, что аллоформа *A9* белка *MICA* значительно сильнее индуцировала продукцию НК клетками $\text{IFN-}\gamma$ [27]. В настоящее время доказана роль $\text{IFN-}\gamma$ в патогенезе АИТЗ. Высвобождаясь из лимфоцитов, $\text{IFN-}\gamma$ индуцирует экспрессию молекул *HLA II* класса на тироцитах, увеличивает выработку цитокинов внутри щитовидной железы, усиливает взаимодействие между хемокинами и их рецепторами и костимулирующими молекулами. Более того, $\text{IFN-}\gamma$ ингибирует апоптоз активированных Т-лимфоцитов, способствуя таким образом распространению аутоиммунного воспаления в щитовидной железе [29]. Установлено, что уровни $\text{IFN-}\gamma$ коррелируют с активностью заболевания при болезни Грейвса [30] и выраженностью гипотиреоза при АИТ [31].

При сравнении частот генотипов полиморфных вариантов rs3087243 гена *CTLA-4* в исследуемых группах отмечены статистически значимые различия в рецессивной модели наследования: у детей с АПС 3а типа достоверно чаще регистрировался генотип GG, чем у пациентов с СД 1-го типа (ОШ = 5,06 (1,12–22,97)) и в группе контроля (ОШ = 5,30 (1,04–27,12)) (табл. 3). В мультипликативной модели также выявлены отличия между пациентами с АПС 3а типа и лицами с СД 1-го типа (аллель G: 5,13 (1,51–17,38), $p = 0,002$) и контролем (аллель G: 6,53 (1,79–23,80), $p = 0,003$).

Таблица 3. Распределение частот аллелей и генотипов CT60 (rs3087243) гена *CTLA-4* у пациентов исследуемых группTable 3. Genotype and allele frequencies at CT60 (rs3087243) locus of the *CTLA-4* gene in patients in the studied groups

Группа	Частота генотипов, n (%)			Частота аллелей, n (%)		Рецессивная модель (GG vs AA+AG)		Мультипликативная модель (G vs A)	
	AA	AG	GG	A	G	ОШ (95 % ДИ) АПС 3а типа vs сравниваемая группа	Стат. значимость различий	ОШ (95 % ДИ) АПС 3а типа vs сравниваемая группа	Стат. значимость различий
АПС 3а типа	1 (1,9)	1 (1,9)	50 (96,2)	3 (2,9)	101 (97,1)	–	–	–	–
СД 1-го типа	10 (10,5)	6 (6,3)	79 (83,2)	26 (13,7)	164 (86,3)	5,06 (1,12–22,97)	$F_{\text{ДВ}} = 0,04, p = 0,033$	5,34 (1,57–18,09)	$F_{\text{ДВ}} = 0,03, p = 0,002$
Контроль	6 (15,0)	1 (2,5)	33 (82,5)	13 (16,3)	67 (83,7)	5,30 (1,04–27,12)	$F_{\text{ДВ}} = 0,05, p = 0,038$	6,53 (1,79–23,80)	$F_{\text{ДВ}} = 0,06, p = 0,003$

Полученные результаты схожи с данными немецких исследователей J. Houcken с соавт. [21] и демонстрируют ассоциацию полиморфизма CT60 гена *CTLA-4* с риском сочетанного развития СД 1-го типа и АИТЗ и формирования АПС 3а типа у детей с СД 1-го типа. Отмечено, что только гомозиготный генотип GG, по-видимому, оказывает достаточно выраженное влияние на функцию белка CTLA-4, способствуя развитию аутоиммунного процесса. Таким образом, можно сделать вывод о рецессивном наследовании предрасположенности к АПС 3а типа у данного полиморфизма.

Выводы

1. Установлено, что генотип A5.1/5.1 по STR в 5-м экзоне гена *MICA* связан с повышенной вероятностью сочетанного развития СД 1-го типа и АИТЗ (ОШ = 3,65 (1,10–12,05), $F_{\text{ДВ}} = 0,05, p = 0,037$). Отсутствие статистически значимых различий в частоте данного генотипа между основной группой и группой сравнения не позволяет выделить его как маркер риска развития АИТЗ у детей с СД 1-го типа.

2. Выявлена ассоциация аллеля *MICA*-A9 с предрасположенностью к формированию АПС 3а типа у девочек с СД 1-го типа (ОШ = 2,60 (1,17–5,74), $p = 0,017$). Отмечена связь носительства данного аллеля с риском развития у пациенток с СД 1-го типа наиболее тяжелых форм АИТЗ, сопровождающихся манифестным гипотиреозом (ОШ = 6,42 (1,70–24,24), $p = 0,005$) и гипертрофии щитовидной железы (ОШ = 7,78 (1,81–33,38), $p = 0,004$).

3. Показана ассоциация полиморфизма CT60 (rs3087243) гена *CTLA-4* с предрасположенностью к АПС 3а типа с реализацией рецессивной модели наследования: у детей с полигландулярной патологией значительно чаще регистрировали генотип GG по rs3087243 гена *CTLA-4*, чем у пациентов с СД 1-го типа (ОШ = 5,06 (1,12–22,97), $p = 0,033$) и лиц контрольной группы (ОШ = 5,30 (1,04–27,12), $p = 0,038$).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Работа выполнена по договору № 2018-28-006 от 23.03.2018 на выполнение НИОК(Т)Р вне рамок государственных программ, государственных (отраслевых) научно-технических программ за счет средств республиканского централизованного инновационного фонда. Авторы выражают благодарность сотрудникам лабораторий нехромосомной наследственности и молекулярных основ стабильности генома Института генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, принявшим участие в исследовании.

Acknowledgements. The work was performed under contract No. 2018-28-006 dated 03.23.2018 for the performance of researches outside the state programs, state (sectoral) scientific and technical programs at the expense of the republican centralized innovation fund. The authors express their gratitude to the staff of the Laboratory of Non-chromosomal heredity and the Laboratory of Molecular Basis of Genome Stability of the Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, who participated in the study.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Baranwal, A. K. Major Histocompatibility Complex class I chain-related A (MICA) molecules: Relevance in solid organ transplantation / A. K. Baranwal, N. K. Mehra // *Frontiers in Immunology*. – 2017. – Vol. 8. – Art. 182. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00182>
2. IPD-IMGT/HLA Database. – URL: <https://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/about/statistics/> (date of access: 10.02.2025).
3. Association between MICA polymorphisms, s-MICA levels, and pancreatic cancer risk in a population-based case-control study / G. Onyeaghala, J. Lane, N. Pankratz [et al.] // *PLoS One*. – 2019. – Vol. 14, N 6. – P. e0217868. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217868>
4. Frigoul, A. MICA: Standardized IMGT allele nomenclature, polymorphisms and diseases / A. Frigoul, M.-P. Lefranc // *Recent Research Developments in Human Genetics*. – 2005. – Vol. 3. – P. 95–145.
5. Association between functional MICA-TM and Behcet's disease: a systematic review and meta-analysis / J. Zhang, D. Liao, L. Yang, S. Hou // *Scientific Reports*. – 2016. – Vol. 6. – Art. 21033. <https://doi.org/10.1038/srep21033>
6. Meta-analysis of the association between functional MICA-TM polymorphisms and systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis / Y. H. Lee, S.-C. Bae, J.-H. Kim, G. G. Song // *Zeitschrift für Rheumatologie*. – 2015. – Vol. 74, N 2. – P. 146–152. <https://doi.org/10.1007/s00393-014-1409-9>
7. Song, G. G. Associations between the major histocompatibility complex class I chain-related gene A transmembrane (MICA-TM) polymorphism and susceptibility to psoriasis and psoriatic arthritis: a meta-analysis / G. G. Song, J. H. Kim, Y. H. Lee // *Rheumatology International*. – 2014. – Vol. 34, N 1. – P. 117–123. <https://doi.org/10.1007/s00296-013-2849-2>
8. Major histocompatibility complex class I chain related gene-A microsatellite polymorphism shows secondary association with type 1 diabetes and celiac disease in North Indians / N. Kumar, G. Sharma, G. Kaur [et al.] // *Tissue Antigens*. – 2012. – Vol. 80, N 4. – P. 356–362. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2012.01931.x>
9. Englander, H. Alopecia areata: a review of the genetic variants and immunodeficiency disorders associated with alopecia areata / H. Englander, B. Paiewonsky, L. Castelo-Soccio // *Skin Appendage Disorders*. – 2023. – Vol. 9, N 5. – P. 325–332. <https://doi.org/10.1159/000530432>
10. MICA marks additional risk factors for Type 1 diabetes on extended HLA haplotypes: an association and meta-analysis / B. Z. Alizadeh, P. Eerligh, A. R. van der Slik [et al.] // *Molecular Immunology*. – 2007. – Vol. 44, N 11. – P. 2806–2812. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2007.01.032>
11. MHC class I chain-related gene alleles 5 and 5.1 are transmitted more frequently to type 1 diabetes offspring in HBDI families / L. N. Zake, M. Ghaderi, Y. S. Park [et al.] // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2002. – Vol. 958. – P. 309–311. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2002.tb02993.x>
12. Polymorphism in the transmembrane region of the MICA gene and type 1 diabetes / Y. J. Lee, F. Y. Huang, C. H. Wang [et al.] // *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*. – 2000. – Vol. 13, N 5. – P. 489–496. <https://doi.org/10.1515/jpem.2000.13.5.489>
13. Association of MICA alleles with autoimmune thyroid disease in Korean children / W. K. Cho, M. H. Jung, S. H. Park [et al.] // *International Journal of Endocrinology*. – 2012. – Vol. 2012. – Art. 235680. <https://doi.org/10.1155/2012/235680>
14. Polymorphisms of MICA microsatellites in thyroidal autoimmunity / M. Ide, M. Dittmar, M. Wurm [et al.] // *Medizinische Klinik (Munich)*. – 2007. – Vol. 102, N 1. – P. 11–15. <https://doi.org/10.1007/s00063-007-1001-z>
15. Early onset of polyglandular failure is associated with HLA-DRB1*03 / M. Dittmar, M. Ide, M. Wurm, G. J. Kahaly // *European Journal of Endocrinology*. – 2008. – Vol. 159, N 1. – P. 55–60. <https://doi.org/10.1530/EJE-08-0082>
16. Current understanding of CTLA-4: from mechanism to autoimmune diseases / M. M. Hossen, Y. Ma, Z. Yin [et al.] // *Frontiers in Immunology*. – 2023. – Vol. 14. – Art. 1198365. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1198365>
17. CD28/CTLA-4/ICOS haplotypes confers susceptibility to Graves' disease and modulates clinical phenotype of disease / E. Pawlak-Adamska, I. Frydecka, M. Bolanowski [et al.] // *Endocrine*. – 2017. – Vol. 55, N 1. – P. 186–199. <https://doi.org/10.1007/s12020-016-1096-1>
18. Soluble CTLA-4 receptor an immunological marker of Graves' disease and severity of ophthalmopathy is associated with CTLA-4 Jo31 and CT60 gene polymorphisms / J. Daroszewski, E. Pawlak, L. Karabon [et al.] // *European Journal of Endocrinology*. – 2009. – Vol. 161, N 5. – P. 787–793. <https://doi.org/10.1530/EJE-09-0600>
19. sCD163, sCD28, sCD80, and sCTLA-4 as soluble marker candidates for detecting immunosenescence / A. Aprilia, K. Handono, H. Sujuti [et al.] // *Immunity and Ageing*. – 2024. – Vol. 21, N 1. – Art. 9. <https://doi.org/10.1186/s12979-023-00405-0>
20. CTLA-4 +49 G/A polymorphism confers autoimmune disease risk: an updated meta-analysis / K. Wang, Q. Zhu, Y. Lu [et al.] // *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*. – 2017. – Vol. 21, N 4. – P. 222–227. <https://doi.org/10.1089/gtmb.2016.0335>
21. PTPN22 and CTLA-4 polymorphisms are associated with polyglandular autoimmunity / J. Houcken, C. Degenhart, K. Bender [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2018. – Vol. 103, N 5. – P. 1977–1984. <https://doi.org/10.1210/je.2017-02577>
22. Association between rs3087243 and rs231775 polymorphism within the cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 gene and graves' disease: a case/control study combined with meta-analyses / Y. Tu [et al.] // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8, N 6. – P. 110614–110624. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.22702>
23. Associations between three CTLA-4 polymorphisms and Hashimoto's thyroiditis risk: An updated meta-analysis with trial sequential analysis / Y. Hu, K. Xu, L. Jiang [et al.] // *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*. – 2018. – Vol. 22, N 4. – P. 224–236. <https://doi.org/10.1089/gtmb.2017.0243>

24. Костюченко, В. А. Нормативы объема щитовидной железы при эхографическом исследовании / В. А. Костюченко, С. И. Пиманов // *Новости лучевой диагностики*. – 1998. – № 3. – С. 26–27.
25. Association between the transmembrane region polymorphism of MHC class I chain related gene-A and type 1 diabetes mellitus in Sweden / M. Gupta, L. Nikitina-Zake, M. Zarghami [et al.] // *Human Immunology*. – 2003. – Vol. 64, N 5. – P. 553–561. [https://doi.org/10.1016/s0198-8859\(03\)00035-1](https://doi.org/10.1016/s0198-8859(03)00035-1)
26. The human cytomegalovirus protein UL147A downregulates the most prevalent MICA allele: MICA*008, to evade NK cell-mediated killing / E. Seidel, L. Dassa, C. Schuler [et al.] // *PLOS Pathogens*. – 2021. – Vol. 17, N 5. – Art. e1008807. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008807>
27. Functional characterisation and analysis of the soluble NKG2D ligand repertoire detected in umbilical cord blood plasma / S. T. Cox, R. Danby, D. Hernandez [et al.] // *Frontiers in Immunology*. – 2018. – Vol. 9. – Art. 1282. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01282>
28. Role of the MICA polymorphism in systemic lupus erythematosus / K. Yoshida, K. Komai, K. Shiozawa [et al.] // *Arthritis and Rheumatology*. – 2011. – Vol. 63, N 10. – P. 3058–3066. <https://doi.org/10.1002/art.30501>
29. Chemokines in thyroid autoimmunity / S. M. Ferrari, S. R. Paparo, F. Ragusa [et al.] // *Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2023. – Vol. 37, N 2. – Art. 101773. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2023.101773>
30. Serum interferon levels associated with the disease activity in women with overt Graves' disease / C.-W. Cheng, W.-F. Fang, K.-T. Tang, J.-D. Lin // *Cytokine*. – 2021. – Vol. 138. – Art. 155353. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2020.155353>
31. Expression profile of interferon-gamma (IFN- γ) mRNA as diagnostic molecular signatures of Hashimoto's thyroiditis / N. M. Rashad, R. M. Shabrawy, S. M. Shabrawy, H. M. Hassanin // *Egyptian Journal of Medical Microbiology*. – 2021. – Vol. 30, N 2. – P. 117–123.

References

1. Baranwal A. K., Mehra N. K. Major Histocompatibility Complex class I chain-related A (MICA) molecules: Relevance in solid organ transplantation. *Frontiers in Immunology*, 2017, vol. 8, art. 182. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00182>
2. *IPD-IMGT/HLA Database*. Available at: <https://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/about/statistics/> (accessed 10.02.2025).
3. Onyeaghala G., Lane J., Pankratz N., Nelson H. H., Thyagarajan B., Walcheck B., Anderson K. E., Prizment A. E. Association between MICA polymorphisms, s-MICA levels, and pancreatic cancer risk in a population-based case-control study. *PLoS One*, 2019, vol. 14, no. 6, p. e0217868. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217868>
4. Frigoul A., Lefranc M.-P. MICA: Standardized IMGT allele nomenclature, polymorphisms and diseases. *Recent Research Developments in Human Genetics*, 2005, vol. 3, pp. 95–145.
5. Zhang J., Liao D., Yang L., Hou S. Association between functional MICA-TM and Behcet's disease: a systematic review and meta-analysis. *Scientific Reports*, 2016, vol. 6, art. 21033. <https://doi.org/10.1038/srep21033>
6. Lee Y. H., Bae S.-C., Kim J.-H., Song G. G. Meta-analysis of the association between functional MICA-TM polymorphisms and systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis. *Zeitschrift für Rheumatologie*, 2015, vol. 74, no. 2, pp. 146–152. <https://doi.org/10.1007/s00393-014-1409-9>
7. Song G. G., Kim J. H., Lee Y. H. Associations between the major histocompatibility complex class I chain-related gene A transmembrane (MICA-TM) polymorphism and susceptibility to psoriasis and psoriatic arthritis: a meta-analysis. *Rheumatology International*, 2014, vol. 34, no. 1, pp. 117–123. <https://doi.org/10.1007/s00296-013-2849-2>
8. Kumar N., Sharma G., Kaur G., Tandon N., Bhatnagar S., Mehra N. Major histocompatibility complex class I chain related gene-A microsatellite polymorphism shows secondary association with type 1 diabetes and celiac disease in North Indians. *Tissue Antigens*, 2012, vol. 80, no. 4, pp. 356–362. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2012.01931.x>
9. Englander H., Paiewonsky B., Castelo-Soccio L. Alopecia areata: a review of the genetic variants and immunodeficiency disorders associated with alopecia areata. *Skin Appendage Disorders*, 2023, vol. 9, no. 5, pp. 325–332. <https://doi.org/10.1159/000530432>
10. Alizadeh B. Z., Eerligh P., van der Slik A. R., Shastry A., Zhernakova A., Valdigem G. [et al.]. MICA marks additional risk factors for Type 1 diabetes on extended HLA haplotypes: an association and meta-analysis. *Molecular Immunology*, 2007, vol. 44, no. 11, pp. 2806–2812. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2007.01.032>
11. Zake L. N., Ghaderi M., Park Y. S., Babu S., Eisenbarth G., Sanjeevi C. B. MHC class I chain-related gene alleles 5 and 5.1 are transmitted more frequently to type 1 diabetes offspring in HBDI families. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2002, vol. 958, pp. 309–311. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2002.tb02993.x>
12. Lee Y. J., Huang F. Y., Wang C. H., Lo F. S., Tsan K. W., Hsu C. H., Huang C. Y., Chang S. C., Chang J. G. Polymorphism in the transmembrane region of the MICA gene and type 1 diabetes. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, 2000, vol. 13, no. 5, pp. 489–496. <https://doi.org/10.1515/jpem.2000.13.5.489>
13. Cho W. K., Jung M. H., Park S. H., Baek I. C., Choi H.-B., Kim T.-G., Suh B.-K. Association of MICA alleles with autoimmune thyroid disease in Korean children. *International Journal of Endocrinology*, 2012, vol. 2012, art. 235680. <https://doi.org/10.1155/2012/235680>
14. Ide M., Dittmar M., Wurm M., Kanitz M., Kahaly G. J. Polymorphisms of MICA microsatellites in thyroidal autoimmunity. *Medizinische Klinik (Munich)*, 2007, vol. 102, no. 1, pp. 11–15. <https://doi.org/10.1007/s00063-007-1001-z>
15. Dittmar M., Ide M., Wurm M., Kahaly G. J. Early onset of polyglandular failure is associated with HLA-DRB1*03. *European Journal of Endocrinology*, 2008, vol. 159, no. 1, pp. 55–60. <https://doi.org/10.1530/EJE-08-0082>
16. Hossen M. M., Ma Y., Yin Z., Xia Y., Du J., Huang J. Y., Huang J. J., Zou L., Ye Z., Huang Z. Current understanding of CTLA-4: from mechanism to autoimmune diseases. *Frontiers in Immunology*, 2023, vol. 14, art. 1198365. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1198365>

17. Pawlak-Adamska E., Frydecka I., Bolanowski M., Tomkiewicz A., Jonkisz A., Karabon L., Partyka A., Nowak O., Szalinski M., Daroszewski J. CD28/CTLA-4/ICOS haplotypes confers susceptibility to Graves' disease and modulates clinical phenotype of disease. *Endocrine*, 2017, vol. 55, no. 1, pp. 186–199. <https://doi.org/10.1007/s12020-016-1096-1>
18. Daroszewski J., Pawlak E., Karabon L., Frydecka I., Jonkisz A., Slowik M., Bolanowski M. Soluble CTLA-4 receptor an immunological marker of Graves' disease and severity of ophthalmopathy is associated with *CTLA-4* Jo31 and CT60 gene. *European Journal of Endocrinology*, 2009, vol. 161, no. 5, pp. 787–793. <https://doi.org/10.1530/EJE-09-0600>
19. Aprilia A., Handono K., Sujuti H., Sabarudin A., Winaris N. sCD163, sCD28, sCD80, and sCTLA-4 as soluble marker candidates for detecting immunosenescence. *Immunity and Ageing*, 2024, vol. 21, no. 1, art. 9. <https://doi.org/10.1186/s12979-023-00405-0>
20. Wang K., Zhu Q., Lu Y., Lu H., Zhang F., Wang X., Fan Y. CTLA-4 +49 G/A polymorphism confers autoimmune disease risk: an updated meta-analysis. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, 2017, vol. 21, no. 4, pp. 222–227. <https://doi.org/10.1089/gtmb.2016.0335>
21. Houcken J., Degenhart C., Bender K., König J., Frommer L., Kahaly G. J. PTPN22 and CTLA-4 polymorphisms are associated with polyglandular autoimmunity. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2018, vol. 103, no. 5, pp. 1977–1984. <https://doi.org/10.1210/jc.2017-02577>
22. Tu Y., Fan G., Dai Y., Zeng T., Xiao F., Chen L., Kong W. Association between rs3087243 and rs231775 polymorphism within the cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 gene and Graves' disease: a case/control study combined with meta-analyses. *Oncotarget*, 2017, vol. 8, no. 66, pp. 110614–110624. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.22702>
23. Hu Y., Xu K., Jiang L., Zhang L., Shi H., Cui D. Associations between three CTLA-4 polymorphisms and Hashimoto's thyroiditis risk: An updated meta-analysis with trial sequential analysis. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, 2018, vol. 22, no. 4, pp. 224–236. <https://doi.org/10.1089/gtmb.2017.0243>
24. Kostyuchenko V. A., Pimanov S. I. Standards for thyroid gland volume in echographic examination. *Novosti luchevoi diagnostiki* [News of diagnostic radiology], 1998, no. 3, pp. 26–27 (in Russian).
25. Gupta M., Nikitina-Zake L., Zarghami M., Landin-Olsson M., Kockum I., Lernmark A., Sanjeevi C. B. Association between the transmembrane region polymorphism of MHC class I chain related gene-A and type 1 diabetes mellitus in Sweden. *Human Immunology*, 2003, vol. 64, no. 5, pp. 553–561. [https://doi.org/10.1016/s0198-8859\(03\)00035-1](https://doi.org/10.1016/s0198-8859(03)00035-1)
26. Seidel E., Dassa L., Schuler C., Oiknine-Djian E., Wolf D. G., Le-Trilling V. T. K., Mandelboim O. The human cytomegalovirus protein UL147A downregulates the most prevalent MICA allele: MICA*008, to evade NK cell-mediated killing. *PLOS Pathogens*, 2021, vol. 17, no. 5, art. e1008807. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008807>
27. Cox S. T., Danby R., Hernandez D., Laza-Briviesca R., Pearson H., Madrigal J. A., Saudemont A. Functional characterisation and analysis of the soluble NKG2D ligand repertoire detected in umbilical cord blood plasma. *Frontiers in Immunology*, 2018, vol. 9, art. 1282. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01282>
28. Yoshida K., Komai K., Shiozawa K., Mashida A., Horiuchi T., Tanaka Y., Nose M., Hashimoto A., Shiozawa S. Role of the MICA polymorphism in systemic lupus erythematosus. *Arthritis and Rheumatology*, 2011, vol. 63, no. 10, pp. 3058–3066. <https://doi.org/10.1002/art.30501>
29. Ferrari S. M., Paparo S. R., Ragusa F., Elia G., Mazzi V., Patrizio A., Ghionzoli M., Varricchi G., Centanni M., Ulisse S., Antonelli A., Fallahi P. Chemokines in thyroid autoimmunity. *Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2023, vol. 37, no. 2, art. 101773. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2023.101773>
30. Cheng C.-W., Fang W.-F., Tang K.-T., Lin J.-D. Serum interferon levels associated with the disease activity in women with overt Graves' disease. *Cytokine*, 2021, vol. 138, art. 155353. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2020.155353>
31. Rashad N. M., Shabrawy R. M., Shabrawy S. M., Hassanin H. M. Expression profile of interferon-gamma (IFN-γ) mRNA as diagnostic molecular signatures of Hashimoto's thyroiditis. *Egyptian Journal of Medical Microbiology*, 2021, vol. 30, no. 2, pp. 117–123.

Информация об авторах

Волкова Наталья Васильевна – аспирант, Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220083, г. Минск, Республика Беларусь); врач детский эндокринолог, 2-я городская детская клиническая больница (ул. Нарочанская, 17, 220020, г. Минск, Республика Беларусь); <https://orcid.org/0009-0008-0189-7047>, E-mail: volkova_nv@tut.by

Аксёнова Елена Анатольевна – канд. биол. наук. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь).

Солнцева Анжелика Викторовна – д-р мед. наук, профессор, директор, Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь); заведующий кафед-

Information about the authors

Natalya V. Volkova – Postgraduate student, Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220083, Minsk, Republic of Belarus); pediatric endocrinologist, 2nd City Children's Clinical Hospital (17, Narochanskaya Str., 220020, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0009-0008-0189-7047>, E-mail: volkova_nv@tut.by

Elena A. Aksenova – Ph. D. (Biol.). Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus).

Angelika V. Solntseva – D. Sc. (Med.), Professor, Director, Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunze Str., 223053, Borovlyany v., Minsk region, Republic of Belarus); Head of the Department, Belarusian State Medical Univer-

рой, Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: ang_solntseva@mail.ru

Жарич Виктор Михайлович – науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь).

Александрович Валерия Вадимовна – мл. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь).

Синявская Марина Георгиевна – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: m.sin@inbox.ru

sity (83, Dzerzhinski Ave., 220083, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ang_solntseva@mail.ru

Victor M. Zharich – Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus).

Valeria V. Aleksandrovich – Junior Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus).

Maryna G. Siniauskaya – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: m.sin@inbox.ru

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК [616.98:578.826]-022.3(476)

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-4-344-352>

Поступила в редакцию 16.08.2024

Received 16.08.2024

**Н. В. Поклонская¹, Т. В. Амвросьева¹, Ю. Б. Колтунова¹, И. В. Бельская¹,
А. С. Аринович¹, Е. П. Кишкурно², О. Н. Казинец¹**

¹Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, Минск,
Республика Беларусь

²Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

ОСОБЕННОСТИ ЦИРКУЛЯЦИИ АДЕНОВИРУСОВ НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ И ИХ ДОМИНИРУЮЩИЕ ГЕНОТИПЫ

Аннотация. В настоящей работе представлены результаты изучения особенностей циркуляции аденовирусов (АдВ) в Республике Беларусь.

Исследовано 1 218 проб сточных вод, 2 383 пробы биологического материала от пациентов с различными клиническими формами заболеваемости АдВ, в том числе 1 579 проб от пациентов с острым гастроэнтеритом и 804 пробы от реципиентов гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) с посттрансплантационными осложнениями. Все пробы отбирались на протяжении 2020–2022 гг. ежемесячно.

ДНК АдВ выявлена в 297 (24,38 %) пробах сточных вод. Количественные уровни аденовирусной ДНК находились в диапазоне от 10^3 до 10^{11} ГЭ/пробу, что свидетельствует о высоком уровне циркуляции АдВ в популяции.

ДНК АдВ (вида АдВ F) выявлена у 85 (5,38 %) пациентов всех возрастов с острым гастроэнтеритом (ОГЭ), у детей 6–17 лет частота детекции АдВ F достигала 12 %. Анализ сезонных закономерностей показал, что частота выявления ДНК АдВ в биологическом материале и сточных водах возрастала с июля по декабрь, а с января по май наблюдалось ее снижение.

При изучении роли аденовирусной инфекции в развитии посттрансплантационных осложнений у реципиентов органов и клеток ДНК АдВ была выявлена у 13,92 % реципиентов ГСК: виремия – у 54 %, персистентная аденовирусная инфекция – у 15 % из них, мультиорганный локализация инфекционного процесса – у 12 % пациентов.

Согласно проведенному молекулярному типированию 38 изолятов АдВ, в сточной воде обнаруживались генотипы HAdV1, HAdV2, HAdV3, HAdV12, HAdV40 и HAdV41, у пациентов с ОГЭ – генотипы HAdV40 и HAdV41, у реципиентов ГСК – HAdV5.

Ключевые слова: аденовирусы, количественная ПЦР, сточные воды, эпидемиологический анализ, молекулярное типирование

Для цитирования: Особенности циркуляции аденовирусов на территории Республики Беларусь и их доминирующие генотипы / Н. В. Поклонская, Т. В. Амвросьева, Ю. Б. Колтунова [и др.] // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Сэрыя медыцынскіх навук. – 2025. – Т. 22, № 4. – С. 344–352. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-4-344-352>

**Natalia V. Paklonskaya¹, Tamara V. Amyrosieva¹, Yulia B. Kaltunova¹, Ina V. Belskaya¹,
Aliaksandra S. Arinovich¹, Elena P. Kishkurno², Olga N. Kazinetz¹**

¹Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Minsk, Republic of Belarus

²Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

FEATURES OF ADENOVIRUS CIRCULATION IN THE TERRITORY OF THE REPUBLIC OF BELARUS AND THEIR DOMINANT GENOTYPES

Abstract. This paper presents the results of studies of the features of adenovirus (AdV) circulation in the Republic of Belarus.

A total of 1,218 wastewater samples and 2,383 samples of biological material from patients with various clinical forms were analyzed. This included 1,579 samples from patients with acute gastroenteritis (AGE) and 804 samples from hematopoietic stem cell (HSC) recipients who experienced post-transplant complications. All samples were collected monthly throughout 2020–2022.

AdV DNA was detected in 297 (24.38 %) wastewater samples. The quantitative levels of adenoviral DNA ranged from 10^3 to 10^{11} GE/sample, indicating a high level of AdV circulation within the population.

AdV DNA (AdV F species) was detected in 85 (5.38 %) patients with AGE across all age groups. Among children aged 6–17 years, the frequency of AdV F detection reached 12 %. An analysis of the seasonal patterns showed that the frequency of AdV DNA detection in both biological material and wastewater increased from July to December, followed by a decrease from January to May.

As part of a study of the impact of adenovirus infection on the development of post-transplant complications in recipients of organs and cells, AdV DNA was detected in 13.92 % of HSC recipients. Of these patients, 54 % exhibited viremia, 15 % demonstrated persistent adenovirus infection, and 12 % exhibited multi-organ localization of the infectious process.

The molecular typing of 38 AdV isolates revealed the following genotypes detected in wastewater: HAdV1, HAdV2, HAdV3, HAdV12, HAdV40, and HAdV41. In patients with AGE, genotypes HAdV40 and HAdV41 were identified. In HSCT recipients, HAdV5 was found.

Keywords: adenoviruses, quantitative PCR, wastewater, epidemiological analysis, molecular typing

For citation: Paklonskaya N. V., Amvrosieva T. V., Kaltunova Yu. B., Belskaya I. V., Arinovich A. S., Kishkurno E. P., Kazinetz O. N. Features of adenovirus circulation in the territory of the Republic of Belarus and their dominant genotypes. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk* = *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2025, vol. 22, no. 4, pp. 344–352 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-4-344-352>

Введение. Аденовирусы (АДВ) человека относятся к видам *Human mastadenovirus A–G*, объединяющим более 100 генотипов. Они передаются фекально-оральным, воздушно-капельным и контактно-бытовым путем и активно выделяются в окружающую среду с фекалиями, мочой и респираторным секретом и активны в течение 50 дней от момента заражения [1]. Для циркуляции АДВ не характерна выраженная сезонность, хотя в летне-осенний период она является более активной [2]. Спектр клинических проявлений аденовирусной инфекции характеризуется значительным многообразием в виде острых респираторных заболеваний, фарингита с лихорадкой и конъюнктивитом, эпидемического кератоконъюнктивита, острого геморрагического цистита, острого гастроэнтерита (ОГЭ). Особую опасность по своим последствиям аденовирусная инфекция представляет для иммунокомпрометированных пациентов (реципиентов органов и клеток, онкологических больных и др.), у которых возможна генерализация процесса с мультиорганным поражением. Аденовирусный энцефалит, тяжелое неврологическое осложнение вирусной этиологии, является наиболее частым у реципиентов гемопоэтических стволовых клеток (ГСК). Кроме того, у этой категории пациентов могут регистрироваться геморрагические циститы и гепатит [3]. В последнее время в перечень возможных последствий АДВ-инфицирования включены так называемые острые гепатиты неуточненной этиологии у детей [4]. На сегодняшний день предполагается, что их развитие может быть обусловлено совместным действием инфекции, вызванной аденоассоциированным вирусом, и аденовирусной инфекции, вызванной АДВ F.

Следует также отметить, что аденовирусная инфекция протекает, как правило, достаточно легко, вследствие чего нередко ускользает от внимания специалистов лабораторной диагностики.

По результатам многочисленных зарубежных исследований установлено, что выявление АДВ у людей достаточно часто (почти в 30 % случаев) не ассоциируется с развитием манифестной инфекции, поэтому распространенность и интенсивность циркуляции АДВ среди населения оценить довольно сложно. Решение этой задачи может стать эффективным с применением нового подхода, основанного на использовании так называемой «эпидемиологии сточных вод». Суть такого подхода состоит в мониторинге сточных вод, направленном на выявление и количественную оценку содержания в них АДВ. Эти исследования базируются на идее о том, что чем более активно вирус циркулирует среди населения, тем в больших количествах он выделяется в сточные воды с мочой и фекалиями как от пациентов с манифестной формой инфекции, так и от бессимптомных вирусоносителей, что указывает на его скрытое присутствие в популяции [5].

Исследования сточных вод на предмет содержания в них АДВ имеют и другой важный аспект, связанный с контаминацией им водоисточников, используемых для рекреационных и питьевых нужд, а также почвы в сельскохозяйственных районах. Все это способствует реализации водного и пищевого (с сельскохозяйственной продукцией) путей заражения, что создает угрозу возникновения кишечных форм аденовирусной инфекции.

К АДВ, вызывающим кишечные формы инфекции, относят преимущественно АДВ F типов 40 и 41. Однако есть данные о том, что типы 1, 2, 3, 5 и 57 также могут быть этиологическими агентами ОГЭ [6]. Аденовирусная инфекция поражает главным образом детей в возрасте до 5 лет и неиммунную популяцию пациентов старшего возраста. АДВ F играют существенную роль в формировании заболеваемости ОГЭ, особенно в странах Юго-Восточной Азии, вызывая чаще всего заболевания детей до 3 лет. В странах со средним и низким уровнем жизни они являются

этиологическими агентами в 75 млн случаев диареи у детей младше 5 лет, что составляет 11,8 % смертей ежегодно, уступая по этим показателям только ротавирусу А и шигелле [7]. Так, например, в Бразилии доля аденовирусных ОГЭ составляет 24,5 %, в Турции – 57,6 %. При этом в Индии, Чехии и Польше АдВ F вызывает всего 2; 5,6 и 10 % ОГЭ соответственно [8, 9].

Систематизированные данные о циркулирующих среди населения Беларуси АдВ и их генотипическом разнообразии, так же как и информация о контаминации ими эпидемически значимых объектов окружающей среды, до начала настоящих исследований практически отсутствовали, что затрудняло проведение адекватной оценки эпидемиологической ситуации по АдВ-инфекции и прогнозирование возможных сценариев ее развития.

Цель работы – изучение распространенности аденовирусов среди населения, их вклада в заболеваемость острыми гастроэнтеритами и развитие посттрансплантационных осложнений у реципиентов гемопоэтических стволовых клеток, а также оценка преобладающих генотипов аденовирусов и возможности возникновения водных вспышек аденовирусной инфекции в результате вирусной контаминации питьевой воды.

Материалы и методы исследования. План эксперимента включал ежемесячный отбор проб сточной воды на всей территории республики и параллельные исследования образцов от пациентов с ОГЭ для проведения сравнительного анализа активности циркуляции АдВ среди населения (по результатам исследования сточных вод) и частоты их обнаружения у пациентов с ОГЭ.

Для оценки роли АдВ как этиологического агента тяжелых посттрансплантационных осложнений у реципиентов ГСК изучено наличие аденовирусной инфекции у пациентов с клиническими формами посттрансплантационных осложнений, причиной которых могли стать АдВ. Исследования различных видов биологического материала реципиентов ГСК позволили установить присутствие мультиорганных форм инфекции и локализацию инфекционного процесса.

Результаты изучения сточных вод дали основание для проведения дополнительных исследований питьевой воды для оценки ее контаминации аденовирусами и эпидемического потенциала как фактора передачи возбудителя.

Генотипирование обнаруженных АдВ позволило оценить их типовое разнообразие у пациентов с различными формами инфекции и среди населения в целом.

Всего в исследование было включено 1 218 проб сточных вод, отбравшихся на протяжении 2020–2022 гг. ежемесячно по всей территории страны в бытовых коллекторах жилых кварталов, инфекционных и детских больниц, дошкольных учреждений, а также на станциях аэрации на «входе» и на «выходе».

Для определения частоты аденовирусных ОГЭ исследовано 1 579 проб фекалий от пациентов всех возрастных групп.

Для оценки участия АдВ в развитии тяжелых посттрансплантационных осложнений исследовано 804 пробы биологического материала (фекалий, мочи, крови, ликвора, биоптатов органов) от 237 реципиентов ГСК с различными формами посттрансплантационных осложнений, причиной которых могли быть АдВ.

Возможность аденовирусной контаминации питьевой воды и ее роль как фактора передачи возбудителя изучали на основании исследований 423 проб воды объектов питьевого водоснабжения, отобранных в указанный период.

Весь материал был исследован на наличие ДНК АдВ методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с использованием «Набора для выявления ДНК (РНК) кишечных вирусов методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «ОКВИ-ПЦР» (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, РБ).

Молекулярное типирование выявленных АдВ проводилось методом секвенирования фрагментов белка фибры. Поиск гомологичных последовательностей осуществляли в базе данных NCBI с помощью программы BLAST. Компьютерный анализ последовательностей проводили с помощью программы MEGA версии 7.0.

Результаты и их обсуждение. Для оценки интенсивности циркуляции АдВ F среди населения исследовали сточные воды, поступившие из разных регионов страны. Из 1 218 проанализированных проб ДНК АдВ была выявлена в 297 (24,38 %) из них. Для сравнения: частота обнару-

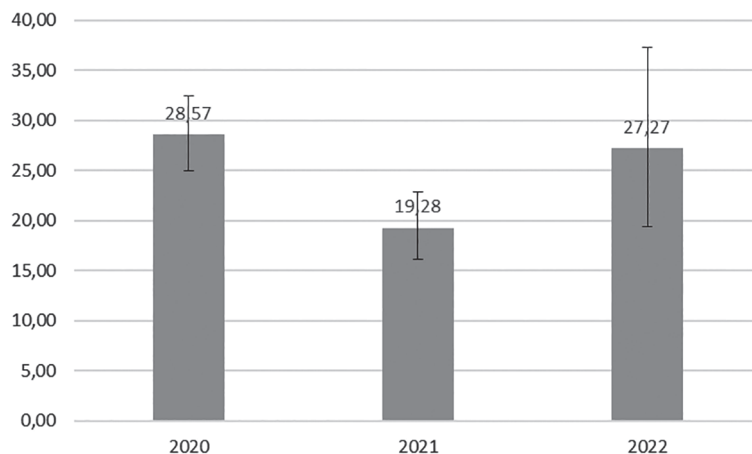


Рис. 1. Частота детекции ДНК АдВ в сточных водах по годам, %

Fig. 1. Frequency of detection of AdV DNA in wastewater by year, %

жения других кишечных вирусов была ниже (ротавирусы выявлялись в 22 % проб, норовирусы – в 13, энтеровирусы – в 12 % образцов сточной воды).

Анализ полученных результатов в течение последних 3 лет (рис. 1) позволил установить, что в 2021 г. имело место статистически значимое уменьшение частоты обнаружения АдВ в сточных водах по сравнению с 2020 г. (28,57 [24,94; 32,5] и 19,28 [16,14; 22,87] % образцов соответственно), указывающее на снижение активности их циркуляции. В 2022 г. доля проб, содержащих ДНК АдВ, вернулась к значению 2020 г. Можно предположить, что наблюдаемое снижение данного показателя было обусловлено в том числе и проводимыми в стране противоэпидемическими мероприятиями в период пандемии COVID-19.

Анализ сезонных закономерностей циркуляции АдВ на основе мониторинга сточных вод показал, что относительное снижение частоты их выявления наблюдалось с марта по июль (19,86–27,39 %), а рост – с августа по февраль (35,59–37,25 %).

Помимо доли проб, содержащих АдВ, для оценки интенсивности их циркуляции использовали такой показатель, как концентрация ДНК АдВ в положительных пробах сточной воды. Оказалось, что количественные уровни аденовирусной ДНК находились в диапазоне от 10^3 до 10^{11} ГЭ/пробу (рис. 2). При этом около 60 % всех исследованных проб содержали от 10^5 до 10^6 ГЭ АдВ, что было больше, чем установлено для других кишечных патогенов – ротавирусов (10^4 ГЭ/мл), норовирусов (10^3 ГЭ/мл) и энтеровирусов (10^3 ГЭ/мл). Представленные данные свидетельствуют о достаточно высоком уровне циркуляции АдВ в популяции.

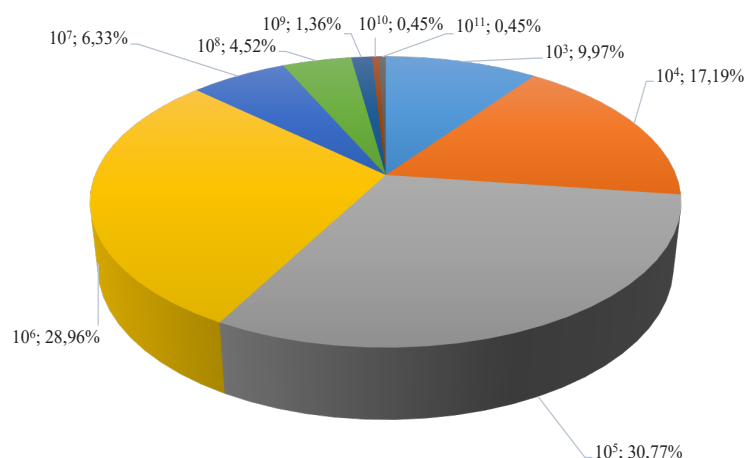


Рис. 2. Концентрации ДНК АдВ в пробах сточных вод (ГЭ/пробу)

Fig. 2. Concentrations of AdV DNA in wastewater samples (GE/sample)

Вследствие отсутствия в Беларуси систематизированных данных о вкладе АдВ в структуру регистрируемой заболеваемости острой кишечной инфекцией проведены исследования по выявлению АдВ F (типы 40 и 41) у 1 579 пациентов с предположительно вирусными ОГЭ. Всего было обследовано: 961 (60,86 %) ребенок в возрасте до 5 лет, 291 (18,43 %) – в возрасте от 6 до 17 лет, 327 (20,71 %) взрослых в возрасте от 18 лет и старше.

Полученные результаты позволили обнаружить ДНК АдВ F у 85 (5,38 %) пациентов.

В 2020 г. частота выявления АдВ F была минимальной во всех возрастных группах (рис. 3), что, по-видимому, было обусловлено санитарно-гигиеническими мероприятиями, получившими широкое распространение в начале пандемии COVID-19. В 2021–2022 гг. частота детекции данных возбудителей в детских группах существенно увеличилась: у детей до 5 лет – в 2 раза (с 3,23 % в 2020 г. до 6,75 и 6,66 % в 2021 и 2022 гг. соответственно), у детей 6–17 лет – в 2–3 раза (с 3,88 % в 2020 г. до 7,59 и 12,00 % в 2021 и 2022 гг. соответственно). В группе взрослых данные показатели в разные годы не имели существенных отличий. Таким образом, полученные данные свидетельствовали о существенном вкладе аденовирусной инфекции в формирование заболеваемости ОГЭ, в первую очередь у детей.

Анализ сезонных закономерностей выявления АдВ F у пациентов с ОГЭ показал, что на протяжении 3 лет исследований самый высокий уровень детекции ДНК АдВ в биологическом материале пациентов регистрировался с июля по декабрь, в то время как с января по май наблюдалось его снижение (рис. 4). Эти данные соответствовали сезонным колебаниям АдВ F в сточных

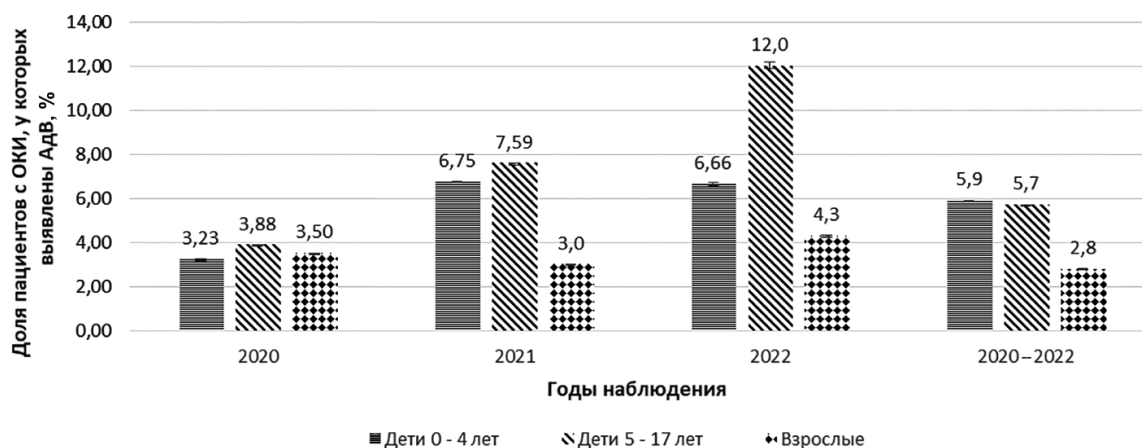


Рис. 3. Доли аденовирусной инфекции у пациентов разных возрастов

Fig. 3. Proportions of adenovirus infection in patients of different ages

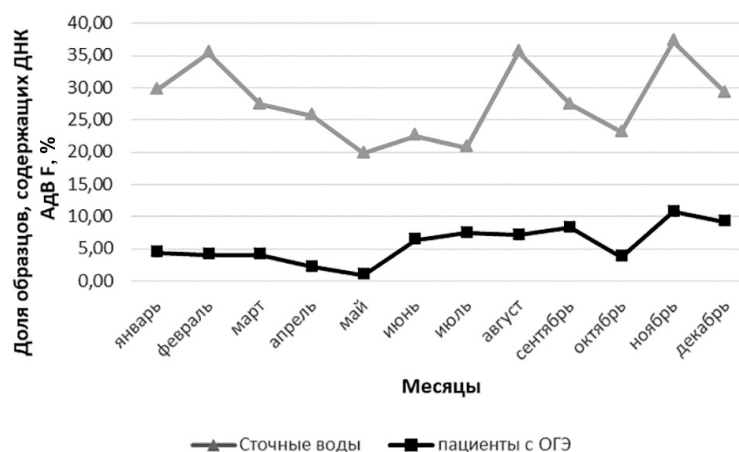


Рис. 4. Уровень детекции ДНК АдВ у пациентов с признаками ОГЭ и в сточных водах по месяцам

Fig. 4. Level of detection of AdV DNA in patients with signs of AGE and in wastewater by month

водах (рис. 4). Если увеличение частоты обнаружения АдВ в фекалиях пациентов с ОГЭ началось с июня и заканчивалось в декабре, то рост показателей их детекции в сточных водах стартовал с августа и заканчивался в феврале. Причем если в октябре наблюдалось снижение частоты детекции АдВ F у пациентов с ОГЭ, то аналогичное снижение имело место и при исследовании проб сточной воды (рис. 4).

Полученные результаты исследований по сезонным колебаниям частоты детекции АдВ F находятся в соответствии с ранее опубликованными данными зарубежных исследователей [2], ставящих под сомнение утверждение об отсутствии сезонности в циркуляции АдВ.

Одним из факторов, определяющих актуальность изучения аденовирусной инфекции, является ее роль в развитии посттрансплантационных осложнений у реципиентов органов и клеток. Именно в этой группе пациентов АдВ могут вызывать угрожающие жизни тяжелые заболевания. Исходя из этого, нами были проведены исследования по изучению частоты обнаружения АдВ у 237 реципиентов ГСК. Установлено, что в посттрансплантационном периоде аденовирусная инфекция обнаруживалась у 33 (13,92 %) реципиентов ГСК, при этом у 18 (54,5 %) из них имела место АдВ-виремия, на что указывало обнаружение ДНК АдВ в сыворотке крови. Мультиорганный локализация инфекционного процесса, при которой ДНК АдВ обнаруживалась параллельно в разных видах биологического материала, присутствовала у 4 (12 %) пациентов, причем у одного из них она обнаруживалась в ликворе, что свидетельствовало о наличии нейроинфекции. Следует также отметить, что у 5 (15 %) реципиентов ДНК АдВ выявлялась периодически в течение длительного времени, что указывало на наличие персистентной аденовирусной инфекции.

Спектр регистрируемых посттрансплантационных осложнений у реципиентов с аденовирусной инфекцией представлен на рис. 5. Как видно из рис. 5, наиболее характерные для аденовирусной инфекции формы с поражением только верхних дыхательных путей обнаруживались только у 13 % пациентов. При этом довольно часто аденовирусная инфекция протекала в виде гепатита (27 %), колита/энтероколита (27 %) и цистита/геморрагического нефрита в сочетании с колитом/энтероколитом и гепатитом (27 %).

Таким образом, полученные нами результаты указывают на то, что широкая распространенность и активная циркуляция АдВ среди населения делает их серьезной угрозой для реципиентов в посттрансплантационном периоде. Если у иммунокомпетентных лиц АдВ вызывают легкие

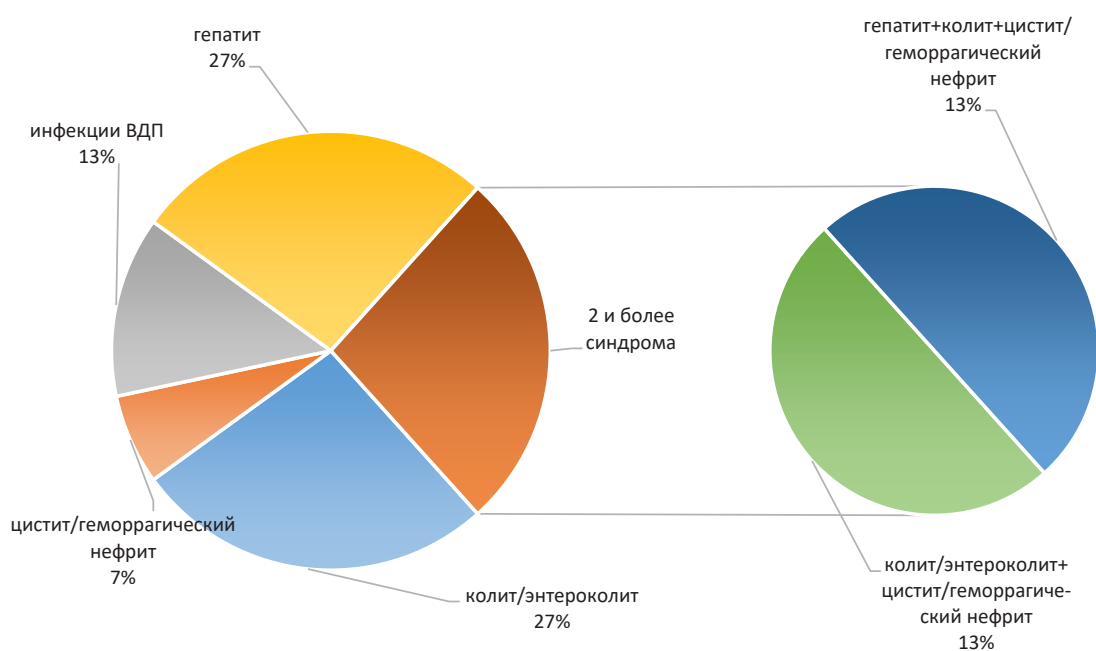


Рис. 5. Частота обнаружения различных клинических проявлений у реципиентов ГСК с аденовирусной инфекцией

Fig. 5. Frequency of detection of various clinical manifestations in recipients of HSC with adenovirus infection

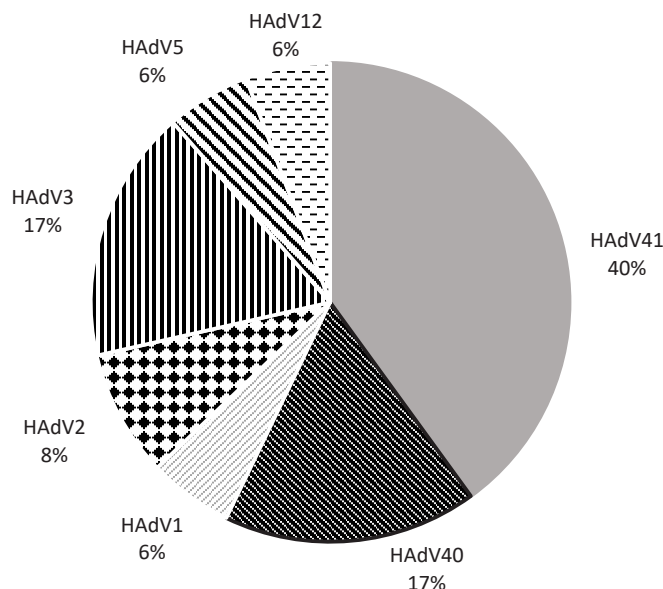


Рис. 6. Спектр выявленных генотипов АдВ

Fig. 6. Spectrum of identified genotypes of AdV

респираторные или кишечные инфекции, то у реципиентов ГСК часто имеет место генерализация инфекции с мультиорганной ее локализацией и возможностью персистенции в течение длительного времени.

Присутствие АдВ в значительных концентрациях в сточных водах создает ожидаемый риск контаминации ими эпидемически значимых объектов окружающей среды, что может представлять угрозу для здоровья человека. К таким эпидемически значимым объектам относятся источники питьевого водоснабжения. Учитывая это, нами проведены специальные исследования, направленные на детекцию АдВ в 423 водоисточниках. Полученные результаты показали наличие ДНК АдВ в 15 (3,5 %) проанализированных пробах, что указывает на реальную возможность АдВ-контаминации объектов питьевого водоснабжения и позволяет рассматривать их в качестве возможных источников заражения аденовирусной инфекцией.

В ходе исследований проведено молекулярное типирование 38 изолятов АдВ, выявленных в 30 образцах сточных вод и биоматериалах от 6 пациентов с ОГЭ и от 2 реципиентов ГСК. В сточной воде обнаружены генотипы HAdV1, HAdV2, HAdV3, HAdV12, HAdV40 и HAdV41, у пациентов с ОГЭ – генотипы HAdV40 и HAdV41 (рис. 6). У реципиентов ГСК выявлены преимущественно АдВ, не принадлежащие к АдВ F, среди которых удалось идентифицировать генотип HAdV5.

Заключение. В ходе проведенных исследований получены данные, характеризующие циркуляцию АдВ на территории нашей страны и вклад, вносимый этими возбудителями в структуру как регулярно регистрируемых форм аденовирусной инфекции (ОГЭ), так и тяжелых, угрожающих жизни патологий у реципиентов ГСК.

Установлено, что АдВ активно циркулируют среди населения и являются одним из распространенных (до 12 %) этиологических агентов ОГЭ у детей. Полученные результаты дают основание поставить их на 3-е место в рейтинге этиологических агентов вирусных ОГЭ среди детского населения после рота- и норовирусов.

Циркуляция АдВ характеризуется неярко выраженной сезонностью: частота выявления АдВ у пациентов с ОГЭ и в сточной воде с июля по декабрь была выше, чем с января по май.

АдВ играет существенную роль в возникновении посттрансплантационных осложнений у реципиентов ГСК, о чем свидетельствуют результаты регистрации у них ассоциируемых с данными возбудителями тяжелых патологий в виде гепатитов, колитов/энтероколитов, нефритов.

Полученные данные указывают на необходимость широкого внедрения лабораторной диагностики аденовирусной инфекции, осуществляемой современными молекулярными методами, особенно у реципиентов ГСК, а также проведения регулярного санитарно-вирусологического мониторинга эпидемически значимых водных объектов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Lion, T. Adenovirus infections in immunocompetent and immunocompromised patients / T. Lion // *Clinical Microbiology Reviews*. – 2014. – Vol. 27, N 3. – P. 441–462. <https://doi.org/10.1128/cmr.00116-13>
2. Development of a quantitative immunocapture real-time PCR assay for detecting structurally intact adenoviral particles in water / L. Ogorzaly, S. Bonot, B. E. Moualij [et al.] // *Journal of Virological Methods*. – 2013. – Vol. 194, N 1–2. – P. 235–241. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2013.07.009>
3. Human adenovirus meningoencephalitis: a 3-years overview / L. R. Vidal, S. M. de Almeida, B. M. Cavalli [et al.] // *Journal of NeuroVirology*. – 2019. – Vol. 25, N 4. – P. 589–596. <https://doi.org/10.1007/s13365-019-00758-7>
4. Environmental circulation of adenovirus 40/41 and SARS-CoV-2 in the context of the emergence of acute hepatitis of unknown origin / E. Wollants, E. Keyaerts, L. Cuypers [et al.] // *medRxiv*. – 2022. <https://doi.org/10.1101/2022.06.08.22276091>
5. Occurrence of various viruses and recent evidence of SARS-CoV-2 in wastewater systems / W. Ali [et al.] // *Journal of Hazardous Materials*. – 2021. – Vol. 414. – Art. 125439. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125439>
6. Detection and molecular characterization of adenoviruses in Korean children hospitalized with acute gastroenteritis / J. I. Lee, G.-C. Lee, J. Y. Chung [et al.] // *Microbiology and Immunology*. – 2012. – Vol. 56, N 8. – P. 523–528. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2012.00469.x>
7. Lee, B. Pediatric acute gastroenteritis associated with adenovirus 40/41 in low-income and middle-income countries / B. Lee, C. F. Damon, J. A. Platts-Mills // *Current Opinion in Infectious Diseases*. – 2020. – Vol. 33, N 5. – P. 398–403. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000663>
8. Human enteric adenovirus F40/41 as a major cause of acute gastroenteritis in children in Brazil, 2018 to 2020 / L. G. do Nascimento, A. M. Fialho, J. D. S. R. de Andrade [et al.] // *Scientific Reports*. – 2022. – Vol. 12, N 1. – Art. 11220. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-15413-1>
9. Barutçu, A. Frequency of rotavirus and enteric adenovirus in children with acute gastroenteritis in Halfeti district, Sanliurfa, Turkey / A. Barytçu, S. Barutçu // *Cukurova Medical Journal*. – 2020. – Vol. 45, N 2. – P. 448–454. <https://doi.org/10.17826/cumj.666575>

References

1. Lion T. Adenovirus infections in immunocompetent and immunocompromised patients. *Clinical Microbiology Reviews*, 2014, vol. 27, no. 3, pp. 441–462. <https://doi.org/10.1128/cmr.00116-13>
2. Ogorzaly L., Bonot S., Moualij B. E., Zorzi W., Cauchie H.-M. Development of a quantitative immunocapture real-time PCR assay for detecting structurally intact adenoviral particles in water. *Journal of Virological Methods*, 2013, vol. 194, no. 1–2, pp. 235–241. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2013.07.009>
3. Vidal L. R., de Almeida S. M., Cavalli B. M., Dieckmann T. G., Raboni S. M., Salvador G. L. O., Pereira L. A., Rotta I., Nogueira M. B. Human adenovirus meningoencephalitis: a 3-years overview. *Journal of NeuroVirology*, 2019, vol. 25, no. 4, pp. 589–596. <https://doi.org/10.1007/s13365-019-00758-7>
4. Wollants E., Keyaerts E., Cuypers L., Bloemen M., Thijssen M., Ombelet S. [et al.]. Environmental circulation of adenovirus 40/41 and SARS-CoV-2 in the context of the emergence of acute hepatitis of unknown origin. *medRxiv*, 2022. <https://doi.org/10.1101/2022.06.08.22276091>
5. Ali W., Zhang H., Wang Z., Chang C., Javed A., Ali K., Du W., Niazi N. K., Mao K., Yang Z. Occurrence of various viruses and recent evidence of SARS-CoV-2 in wastewater systems. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, vol. 414, art. 125439. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125439>
6. Lee J. I., Lee G.-C., Chung J. Y., Han T. H., Lee Y., Kim M. S., Lee C. H. Detection and molecular characterization of adenoviruses in Korean children hospitalized with acute gastroenteritis. *Microbiology and Immunology*, 2012, vol. 56, no. 8, pp. 523–528. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2012.00469.x>
7. Lee B., Damon C. F., Platts-Mills J. A. Pediatric acute gastroenteritis associated with adenovirus 40/41 in low-income and middle-income countries. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 2020, vol. 33, no. 5, pp. 398–403. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000663>
8. do Nascimento L. G., Fialho A. M., de Andrade J. D. S. R., de Assis R. M. S., Fumian T. M. Human enteric adenovirus F40/41 as a major cause of acute gastroenteritis in children in Brazil, 2018 to 2020. *Scientific Reports*, 2022, vol. 12, no. 1, art. 11220. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-15413-1>
9. Barutçu A., Barutçu S. Frequency of rotavirus and enteric adenovirus in children with acute gastroenteritis in Halfeti district, Sanliurfa, Turkey. *Cukurova Medical Journal*, 2020, vol. 45, no. 2, pp. 448–454. <https://doi.org/10.17826/cumj.666575>

Информация об авторах

Поклонская Наталья Владимировна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0001-6431-5050>. E-mail: labsanvir@gmail.com

Амвросьева Тамара Васильевна – д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией. Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0001-7309-152X>. E-mail: amvrosieva@gmail.com

Колтунова Юлия Борисовна – мл. науч. сотрудник. Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0002-6488-9422>. E-mail: labsanvir@gmail.com

Бельская Инна Валерьевна – науч. сотрудник. Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0003-4044-6827>. E-mail: labsanvir@gmail.com

Аринович Александра Сергеевна – науч. сотрудник. Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0003-4044-6827>. E-mail: labsanvir@gmail.com

Кишкурно Елена Петровна – канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры. Белорусский государственный медицинский университет (пр-т Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0002-7389-0898>. E-mail: e.kishkurno@yandex.ru

Казинец Ольга Николаевна – науч. сотрудник. Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: labsanvir@gmail.com

Information about the authors

Natalia V. Paklonskaya – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0001-6431-5050>. E-mail: labsanvir@gmail.com

Tamara V. Amvrosieva – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory. Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0001-7309-152X>. E-mail: amvrosieva@gmail.com

Yulia B. Kaltunova – Junior Researcher. Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0002-6488-9422>. E-mail: labsanvir@gmail.com

Ina V. Belskaya – Researcher. Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0003-4044-6827>. E-mail: labsanvir@gmail.com

Aliaksandra S. Arinovich – Researcher. Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0003-4044-6827>. E-mail: labsanvir@gmail.com

Elena P. Kishkurno – Ph. D. (Med.), Associate Professor, Associate Professor of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave, 220116, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0002-7389-0898>. E-mail: e.kishkurno@yandex.ru

Olga N. Kazinets – Researcher. Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: labsanvir@gmail.com