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

ВЕСЦІ
НАЦЫЯНАЛЬНАЙ АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ МЕДЫЦЫНСКІХ НАВУК. 2026. Т. 23, № 1

ИЗВЕСТИЯ
НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК. 2026. Т. 23, № 1

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
Т. В. Смирнова (*ведущий редактор журнала*) – Издательский дом «Беларуская навука», Минск, Республика Беларусь
Ф. И. Висмонт – Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
М. А. Герасименко – Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии, Минск, Республика Беларусь
Ю. Л. Горбич – Комитет по здравоохранению Мингорисполкома, 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
В. С. Караник – Президиум Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
С. А. Красный – Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н. Н. Александрова, Минск, Республика Беларусь
О. Е. Кузнецов – Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, Гродно, 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 – доктор медицинских наук, профессор, Республика Беларусь
А. В. Строцкий – Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
Д. В. Тапальский – Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
И. А. Чешик – Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси, Гомель, Республика Беларусь

Редакционный совет

И. С. Абельская – Республиканский клинический медицинский центр Управления делами Президента Республики Беларусь, а/г Ждановичи, Республика Беларусь
С. А. Бойцов – Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е. И. Чазова, Москва, Российская Федерация
И. Г. Жук – Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Республика Беларусь
А. Д. Каприн – Национальный медицинский исследовательский центр радиологии, Москва, Российская Федерация
И. А. Карпов – Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
А. Н. Михайлов – Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
А. М. Пристром – Республиканский научно-практический центр «Кардиология», Минск, Республика Беларусь
Н. Д. Савенкова – Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Российская Федерация
А. В. Солнцева – Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, д. Боровляны, Республика Беларусь
В. И. Стародубов – Отделение медицинских наук Российской академии наук, Москва, Российская Федерация
С. И. Третьяк – Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
М. В. Угрюмов – Институт биоорганической химии имени академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, Российская Федерация
В. П. Чехонин – Российская академия наук, Москва, Российская Федерация
А. Н. Чуканов – Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, Витебск, 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. 2026. Т. 23, № 1
Выходит на русском, белорусском и английском языках

Редактор *Т. В. Смирнова*
Компьютерная верстка *И. В. Счеснюк*

Подписано в печать 10.02.2026. Выход в свет 25.02.2026. Формат 60×84 1/8. Бумага офсетная.
Печать цифровая. Усл. печ. л. 10,23. Уч.-изд. л. 11,3. Тираж 40 экз. Заказ 23.
Цена номера: индивидуальная подписка – 15,86 руб., ведомственная подписка – 35,17 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, 2026

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

PROCEEDINGS
OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

MEDICAL SERIES, 2026, vol. 23, no. 1

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

E d i t o r - i n - C h i e f

Vasiliy G. Bogdan –
Department of Medical Sciences of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

E d i t o r i a l B o a r d

Oleg O. Rummo (*Associate Editor-in-Chief*) – Minsk Scientific-Practical Center of Surgery, Transplantation and Hematology, Minsk, Republic of Belarus
Tatsiana V. Smirnova (*Leading Editor*) – Publishing House "Belaruskaya Navuka", Minsk, Republic of Belarus
Igor A. Cheshik – Institute of Radiobilogy of the National Academy of Sciences, Gomel, Republic of Belarus
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
Yuriy L. Gorbich – Health Committee of Minsk City Executive Committee, 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
Vladimir S. Karanik – Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus
Sergei A. Krasny – N. N. Alexandrov National Cancer Centre, Minsk, Republic of Belarus
Oleg E. Kuznetsov – Institute of Biochemistry of Biologically Active Substances of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, 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 – D. Sc. (Med.), Professor, Republic of Belarus

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

Editorial Council

Irina S. Abelskaya – Republican Clinical Medical Center of the Administration of the President of the Republic of Belarus, Zhdanovichy rural council, Republic of Belarus
Sergey A. Boytsov – National Medical Research Center for Cardiology named after academician Yevgeniy Chazov, Moscow, Russian Federation
Vladimir P. Chekhonin – Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation
Aleksey N. Chukanov – Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus
Andrey D. Kaprin – National Medical Research Radiological Center, Moscow, Russian Federation
Igor A. Karpov – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
Anatoliy N. Mikhaylov – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
Andrey M. Pristrom – Republican Scientific and Practical Centre "Cardiology", Minsk, Republic of Belarus
Nadezhda D. Savenkova – Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russian Federation
Anzhelika V. Solntseva – Republican Scientific and Practical Centre for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Borovlyany village, Republic of Belarus
Vladimir I. Starodubov – Department of Medical Sciences of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation
Stanislav I. Tretyak – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
Mikhail V. Ugryumov – M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation
Igor G. Zhuk – Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus

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, 2026, vol. 23, no. 1.

Printed in Russian, Belarusian and English languages

Editor *T. V. Smirnova*
Computer imposition *I. V. Schasniuk*

It is sent of the press 10.02.2026. Appearance 25.02.2026. Format 60×84 1/8. Offset paper. The press digital.
Printed pages 10.23. Publisher's signatures 11.3. Circulation 40 copies. Order 23.
Number price: individual subscription – 15.86 byn., departmental subscription – 35.17 byn.

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

© RUE "Publishing House "Belaruskaya Navuka",
Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series, 2026

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

ЗМЕСТ

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

Рубникович С. П., Юрасов А. Ю., Аверьянов С. В., Сирак С. В., Гатило И. А., Перикова М. Г., Ленев В. Н. Сравнительная оценка регенерации кости при периимплантите с использованием остеопластических материалов на основе β-трикальцийфосфата и костного коллагена 7

Шклярова А. Н., Стародубцева М. Н. Упругие свойства и коллаген-синтетическая активность фибробластов легких после внешнего облучения крыс в дозах 0,1–15 Гр 19

Яцкевич Н. В., Асташонок А. Н., Иванова А. Л., Скрягина Е. М., Полещук Н. Н. Клинико-инструментальная характеристика легочных форм туберкулеза и параметры наноструктурной организации микобактерий с множественной лекарственной устойчивостью 29

Шепелькевич А. П., Дыдышко Ю. В., Юреня Е. В. Диагностика феохромоцитомы, первичного гиперпаратиреоза и медуллярного рака щитовидной железы как компонентов синдрома множественной эндокринной неоплазии 2А типа 39

Можейко Л. Ф., Пинчук Т. В., Седляр Н. Г. Оценка влияния однонуклеотидных полиморфизмов генов *IL6* (rs1800797) и *IL6R* (rs2228145) на течение цервикальных интраэпителиальных плоскоклеточных поражений 49

Терпинская Т. И., Маркевич К. В., Полукошко Е. Ф. Противоопухолевая активность *in vitro* глицирретовой кислоты и ее сочетаний с модуляторами кальциевой сигнализации 57

Челноков А. А., Барканов М. Г. Функциональное состояние спинальных центров билатеральных нижних конечностей у спортсменов-легкоатлетов 68

Жерносеченко А. А., Савич Ю. В., Шман Т. В., Исайкина Я. И. Функциональные свойства $CD4^+CD25^+FOXP3^+$ Т-лимфоцитов и их значение для реакции «трансплантат против хозяина» у пациентов после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток 77

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

CONTENTS

CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE

Rubnikovich S. P., Yurasov A. Yu., Averyanov S. V., Sirak S. V., Gatilo I. A., Perikova M. G., Lenev V. N. Comparative evaluation of bone regeneration in peri-implantitis using osteoplastic materials based on β-tricalcium phosphate and bone collagen 7

Shkliarava N. N., Starodubtseva M. N. Elastic properties and collagen-synthesizing activity of pulmonary fibroblasts after external irradiation of rats at doses of 0.1–15 Gy 19

Yatskevich N. V., Astashonok A. N., Ivanova A. L., Skryagina E. M., Poleshchuk N. N. Clinical features of pulmonary tuberculosis and nanostructural characteristics of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* 29

Shepelkevich A. P., Dydyshko Yu. V., Yurenya E. V. Diagnostics of pheochromocytoma, primary hyperparathyroidism, and medullary thyroid cancer as components of multiple endocrine neoplasia syndrome type 2A 39

Mozheiko L. F., Pinchuk T. V., Sedlyar N. G. Evaluation of the influence of single nucleotide polymorphisms of the *IL6* (rs1800797) and *IL6R* (rs2228145) genes on the course of cervical intraepithelial squamous cell lesions 49

Terpinskaya T. I., Markevich K. V., Polukoshko E. F. Antitumor activity *in vitro* of glycyrrhetinic acid and its combinations with calcium signaling modulators 57

Chelnokov A. A., Barkanov M. G. Functional state of the spinal centers of the bilateral lower limbs in athletes ... 68

Zhernasechanka H. A., Savich J. V., Shman T. V., Isaikina Y. I. Functional properties of $CD4^+CD25^+FOXP3^+$ T-lymphocytes and their importance for graft-versus-host reaction in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation 77

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

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE

УДК 616.216-089.85
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-1-7-18

Поступила в редакцию 23.06.2025
Received 23.06.2025

С. П. Рубникович[1], А. Ю. Юрасов[2], С. В. Аверьянов[2], С. В. Сирак[3], И. А. Гатило[3], М. Г. Перикова[3], В. Н. Ленев[3]

[1]Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
[2]Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Российская Федерация
[3]Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Российская Федерация

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТИ ПРИ ПЕРИИМПЛАНТИТЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ В-ТРИКАЛЬЦИЙФОСФАТА И КОСТНОГО КОЛЛАГЕНА

Аннотация. Настоящее исследование посвящено оценке регенераторного потенциала костной ткани в зоне периимплантного дефекта при использовании костезамещающих материалов на основе β-трикальцийфосфата и костного коллагена.

Цель исследования – определить наличие, локализацию и активность остеогенных клеток в зоне периимплантного дефекта для оценки влияния костезамещающего материала на мобилизацию и пролиферацию клеток, ответственных за регенерацию кости.

В рамках эксперимента на овцах смоделирован периимплантит с созданием дефекта вокруг дентального имплантата (ДИ) с последующим его заполнением костезамещающими материалами на основе β-трикальцийфосфата (1-я основная группа) и костного коллагена (2-я основная группа). В контрольной группе периимплантатный дефект вели под кровяным сгустком. По истечении 2 месяцев проведены гистологические и иммуногистохимические исследования, выявлены активная пролиферация и дифференцировка плюрипотентных клеток, выраженная экспрессия маркеров $CD34^+$, NSE^+, EMA^+ и $Ki\text{-}67^+$. Результаты показывают, что оба костезамещающих материала являются остеоиндуктивными, биосовместимыми и способствуют активации клеточных источников для регенерации костной ткани, а также оказывают положительное влияние на процессы неоангиогенеза и формирование ретикулофиброзной костной ткани. Эти данные подтверждают потенциал использования β-трикальцийфосфата и костного коллагена в клинической практике для восстановления костных дефектов при периимплантитах.

Ключевые слова: костная ткань, челюсть, дентальный имплантат, остеоинтеграция, клеточный состав, регенерация

Для цитирования: Сравнительная оценка регенерации кости при периимплантите с использованием остеопластических материалов на основе β-трикальцийфосфата и костного коллагена / С. П. Рубникович, А. Ю. Юрасов, С. В. Аверьянов [и др.] // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2026. – Т. 23, № 1. – С. 7–18. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-1-7-18

Sergey P. Rubnikovich[1], Andrey Yu. Yurasov[2], Sergey V. Averyanov[2], Sergey V. Sirak[3], Irina A. Gatilo[3], Maria G. Perikova[3], Vadim N. Lenev[3]

[1]Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
[2]Bashkir State Medical University, Ufa, Russian Federation
[3]Stavropol State Medical University, Stavropol, Russian Federation

COMPARATIVE EVALUATION OF BONE REGENERATION IN PERI-IMPLANTITIS USING OSTEOPLASTIC MATERIALS BASED ON B-TRICALCIUM PHOSPHATE AND BONE COLLAGEN

Abstract. This study is devoted to the assessment of the regenerative potential of bone tissue in the peri-implant defect zone using bone substitutes based on β-tricalcium phosphate and bone collagen. The aim of the study is to determine the presence, localization and activity of pluripotent cells in the peri-implant defect zone to assess the effect of bone substitutes on the mobilization and proliferation of cells responsible for bone regeneration. As part of the experiment on sheep, peri-implantitis was modeled with the creation of a defect around the dental implant (DI) with its subsequent filling with bone substitutes

based on β-tricalcium phosphate (the first main group) and bone collagen (the second main group). In the control group, the peri-implant defect was maintained under a blood clot. After two months, histological and immunohistochemical studies were performed, active proliferation and differentiation of pluripotent cells, pronounced expression of $CD34^+$, NSE^+, EMA^+ and $Ki\text{-}67^+$ markers were revealed. The results show that both bone-substituting materials are osteoinductive, biocompatible and promote the activation of cellular sources for bone tissue regeneration, and also have a positive effect on neoangiogenesis processes and the formation of reticulofibrous bone tissue. These data confirm the potential of using β-tricalcium phosphate and bone collagen in clinical practice for the restoration of bone defects in peri-implantitis.

Keywords: bone tissue, jaw, dental implant, osseointegration, cellular composition, regeneration

For citation: Rubnikovich S. P., Yurasov A. Yu., Averyanov S. V., Sirak S. V., Gatilo I. A., Perikova M. G., Lenev V. N. Comparative evaluation of bone regeneration in peri-implantitis using osteoplastic materials based on β-tricalcium phosphate and bone collagen. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2026, vol. 23, no. 1, pp. 7–18 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-1-7-18

Введение. Регенерация костной ткани является ключевым процессом для успешной остеоинтеграции дентальных имплантатов (ДИ) и восстановления функциональной целостности челюстно-лицевой области [1, 2]. Периимплантит, характеризующийся воспалением и резорбцией костной ткани вокруг имплантата, остается одной из главных причин потери имплантатов, что осложняет долгосрочный прогноз лечения и снижает качество жизни пациентов [3, 4]. В связи с этим глубокое понимание клеточных и молекулярных механизмов регенерации костной ткани в условиях воспаления приобретает особую актуальность.

Изучение клеточного состава и регенераторного потенциала костной ткани при периимплантите является важным направлением современной имплантологии [5, 6]. Сегодня для замещения периимплантатного дефекта и увеличения срока службы ДИ широко используют различные костезамещающие средства (гидроксиапатит кальция, β-трикальцийфосфат, костный коллаген) [7–9], которые нередко применяют в сочетании с антибактериальными препаратами для купирования воспаления в периимплантатных тканях [10, 11]. Анализу эффективности использования костезамещающих средств может помочь иммуногистохимический анализ регенеративных процессов, позволяющий выявить особенности экспрессии различных маркеров, отражающих состояние тканей и активность клеток в зоне воспаления и регенерации [12].

Для оценки регенеративного процесса в костной ткани в последнее время применяют ряд специфических маркеров, таких как виментин – промежуточный филамент, используемый как маркер мезенхимальных клеток и клеток стромы, позволяющий оценить состояние соединительной ткани и процессов ремоделирования [13]; CD34 – гликопротеин, экспрессируемый на поверхности гемопоэтических стволовых клеток и эндотелиальных клеток, который служит маркером сосудистой сети и ангиогенеза [14]; эпителиальный мембранный антиген (EMA, клон E29), применяемый для идентификации эпителиальных клеток и некоторых опухолевых процессов, что помогает дифференцировать клетки в исследуемом материале; нейронспецифическая энолаза (NSE) – маркер нейроэндокринных клеток и некоторых типов дифференцировки, используемый при оценке клеточной гетерогенности [15].

Пролиферативный индекс определяется с помощью моноклональных антител к Ki-67 – белку, экспрессия которого коррелирует с активностью клеточного деления, что также крайне важно для оценки регенеративных процессов в костной ткани [16]. Кроме того, используют синаптофизин (клон MRO-40), который служит маркером синаптических везикул и нейроэндокринной дифференцировки, расширяя возможности морфологической характеристики клеточных элементов [17].

Таким образом, использование моноклональных и поликлональных антител к перечисленным маркерам позволяет наиболее точно оценить клеточный состав, степень пролиферации и особенности регенерации костной ткани, что способствует более глубокому пониманию патогенеза и поиску эффективных методов лечения периимплантита.

Цель исследования – определить наличие, локализацию и активность плюрипотентных клеток в зоне периимплантного дефекта для оценки влияния костезамещающего материала на мобилизацию и пролиферацию клеток, ответственных за регенерацию кости.

Материалы и методы исследования. Для определения клеточного состава и регенераторного потенциала костной ткани в периимплантатном дефекте сформировали 3 группы эксперименталь-

ных животных, в каждой из которых было по 4 однолетние овцы северокавказской породы с одинаковой массой 18–20 кг. Периимплантит моделировали по ранее разработанной и запатентованной методике [18]. Суть метода заключалась в следующем: всем животным под внутривенным наркозом (2%-й р-р рометара и 2%-й р-р калипсола в соотношении 1 : 1 из расчета 0,5 мл на 1 кг массы тела животного) производили установку титановых винтовых ДИ Osstem (Южная Корея) диаметром 2,5 мм и длинной 6 мм на беззубых участках нижней челюсти по 2 с каждой стороны (рис. 1, *a*).

Особенность установки имплантатов по плану эксперимента состояла в том, чтобы сформировать недостаток костной ткани в пришеечной части ДИ, для чего последние недокручивали на 5–6 оборотов резьбы, дополнительно удаляя фрезой 2–3 мм кортикальной кости (рис. 1, *b*). После установки заглушек имплантаты изолировали от мягких тканей (рис. 1, *c*) биосовместимой композитной репереновой мембраной («Рекост», Россия). Модель периимплантита считалась сформированной через 2 месяца на основании клинических (оголение поверхности ДИ на ½ длины), микробиологических (присутствие в области периимплантатного дефекта специфических возбудителей из группы облигатно-анаэробных бактерий (*Prevotella melaninogenica*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*) в количестве, превышающем показатели интактных животных более чем в 2 раза) и рентгенологических (костный карман вокруг ДИ глубиной 4–5 мм) данных (рис. 1, *d*).

В 1-й основной группе (4 животных, 16 ДИ) сформированный таким образом дефект вокруг имплантата заполняли гранулами β-трикальцийфосфата («Трикафор», Россия). В 2-й основной группе (4 животных, 16 ДИ) дефекты вокруг установленных дентальных имплантатов заполняли костным коллагеном («Ламбон», Германия). В контрольной группе животных (4 животных, 8 ДИ) воспроизведенный по вышеописанной методике костный дефект вокруг ДИ вели под кровяным сгустком.

Через 2 месяца ДИ удаляли вместе с окружающими тканями и отправляли на гистологическое и иммуногистохимическое исследование (ИГХ-исследование), общие этапы которого включали декальцификацию (мягкими методами с использованием этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) для сохранения антигенности), заливку парафиновых блоков с тканями, фиксированными в нейтральном формалине, подготовку срезов толщиной 3–5 мкм, окраску гематоксилином и эозином и по Маллори (для гистологического исследования), депарафинизацию и гидратацию с использованием ксилола и спиртов восходящей плотности.

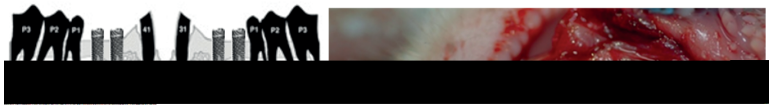


Рис. 1. Этапы экспериментального исследования: *a* – установка титановых винтовых ДИ; *b* – формирование недостатка костной ткани в пришеечной части ДИ; *c* –изолирование имплантатов от мягких тканей биосовместимой композитной репереновой мембраной; *d* – сформированная модель периимплантита на основании клинических, микробиологических и рентгенологических данных

Fig. 1. Stages of the experimental study: *a* – installation of titanium screw implants; *b* – formation of bone tissue deficiency in the cervical part of the implant; *c* – isolation of implants from soft tissues using a biocompatible composite membrane; *d* – formed model of peri-implantitis based on clinical, microbiological, and radiological data

Антигенный рестретчинг (раскрутка) полученного материала перед фиксацией на покровное стекло (для ИГХ-исследования) включал нанесение цитратного буфера с pH 6,0 и ЭДТА с pH 8,0, последовательный нагрев в микроволновой печи (2 мин при 60 °C) и на водяной бане (10 мин при 95 °C). Для блокирования неспецифического связывания использовалась 5–10%-я сыворотка кролика с инкубацией в ацетатном буфере 30 мин при комнатной температуре. Перечень использованных антител приведен в табл. 1.

Таблица 1. **Инкубация с первичными антителами**

Table 1. **Incubation with Primary Antibodies**

Антитело	Клон/тип	Разведение	Температура и время инкубации
К виментину (V9)	Моноклональные/мышиные	1 : 100–1 : 200	ОН при 4 °C или 1–2 ч при RT
К CD34	Моноклональные/мышиные	1 : 50–1 : 100	ОН при 4 °C или 1–2 ч при RT
К EMA (E29)	Моноклональные/мышиные	1 : 50–1 : 100	ОН при 4 °C или 1–2 ч при RT
К NSE	Поликлональные/кроличьи	1 : 100–1 : 200	ОН при 4 °C или 1–2 ч при RT
К Ki-67	Моноклональные/кроличьи	1 : 50–1 : 100	ОН при 4 °C или 1–2 ч при RT
К синаптофизину (MRO-40)	Моноклональные/кроличьи	1 : 50–1 : 100	ОН при 4 °C или 1–2 ч при RT

Положительный контроль производился при сравнении тканей с известной экспрессией соответствующего маркера, отрицательный контроль – путем замены первичного антитела на цитратный буфер.

Микроскопию срезов проводили на световом микроскопе Olimpus (Япония) при различных увеличениях (×10, ×20, ×50, ×100, ×400), для количественной оценки определяли процент положительно окрашенных клеток в поле зрения (например, 5–10 полей, ×400), для полуколичественной оценки использовали шкалу интенсивности (0 – нет окрашивания, 1 – слабое окрашивание, 2 – умеренное, 3 – сильное), а также комбинированные индексы (H-score). Для лучшей визуализации антител использовали хромоген диаминобензидин (DAB) и контрокрашивание гематоксилином.

Статистическая обработка данных производилась в несколько этапов. На этапе предварительной обработки определяли среднее значение и стандартное отклонение для каждого маркера и группы с проверкой нормальности распределения (тест Шапиро – Уилка). На этапе сравнения групп при нормальном распределении использовали *t*-тест (для двух основных групп) и ANOVA (для двух основных и контрольной группы), при ненормальном распределении – непараметрические тесты Манна – Уитни (для двух основных групп) и Крускала – Уоллиса (для двух основных и контрольной группы). При корреляционном анализе использовали параметры Пирсона (при нормальности распределения) и Спирмена (при ненормальности распределения) для оценки связи между экспрессией маркеров и клиническими параметрами. При регрессионном анализе применяли множественную регрессию для выявления влияния нескольких факторов на клинический исход.

Все экспериментальные исследования проведены в соответствии с требованиями надлежащей лабораторной практики[1], с соблюдением Международных принципов Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей ETS N 123 (Страсбург, 18 марта 1986 г.), а также в соответствии с Международными рекомендациями (этическим кодексом) по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (1985), Общими этическими принципами экспериментов на животных (Россия, 2011), Правилами лабораторной практики в Российской Федерации[2] и положительным заключением этического комитета в условиях специализированного вивария на базе Ставропольского государственного аграрного университета.

[1] Принципы надлежащей лабораторной практики: ГОСТ Р 53434-2009. – Введ. 02.12.2009. – М.: Стандартинформ, 2010. – IV, 12.

[2] Об утверждении Правил лабораторной практики: приказ Минздрава Российской Федерации от 18 мая 2021 г. № 464н // ГАРАНТ.РУ: информационно-правовой портал. – URL: https://base.garant.ru/400839855/?ysclid=mkqeiitl89933387171 (дата обращения: 22.01.2026).

Результаты исследования. Через 2 месяца после формирования модели периимплантита в контрольной группе в зоне оперативного вмешательства по периферии расположена пластинчатая костная ткань, представленная разветвленной сетью трабекул 2 типов: широкие, короткие без анастомозов, наслаивающиеся друг на друга, а также длинные и тонкие, неправильно изогнутые. В периимплантатном дефекте обнаружены остеоны разных размеров с многочисленными эрозивными лакунами, окруженные гемопоэтической рыхлой соединительной тканью в состоянии атрофии, с дезорганизацией коллагеновых волокон (рис. 2, *a*) и их отторжением от основного костного вещества. Костная ткань, прилегающая к зоне оперативного вмешательства в единичных участках, разрыхлена, гомогенизирована, что является признаком некроза данных областей (рис. 2, *b*).

К этому же сроку наблюдения в обеих основных группах в трабекулах обнаружены широкие лакуны, костный матрикс в состоянии декальцинации с очагами просветлений. При окраске по Маллори просматриваются тонкие прослойки костной ткани без патогистологических изменений (рис. 2, *c*), слоистое строение остеонов нарушено, визуализируются единичные зигзагообразные цементирующие линии, коллагеновые волокна матрикса костного вещества обнажены и отчетливо просматриваются (рис. 2, *d*).

В контрольной группе периост оказался резко утолщен за счет коллагенизации волокнистого слоя, коллагеновые волокна образуют параллельно организованные толстые грубые пучки, которые идут в виде тяжей. Повсеместно по периферии периоста и в волокнистом слое выявляются крупные очаги кровоизлияний (рис. 3, *a*).

В 1-й основной группе зона оперативного вмешательства представлена сформированными и формирующимися трабекулами из ретикулофиброзной костной ткани. Между трабекулами расположена соединительная ткань (представленная в основном коллагеновыми волокнами, формирующими завихрения) и ретикулофиброзная костная ткань (формирующая толстые полигональной формы трабекулы).

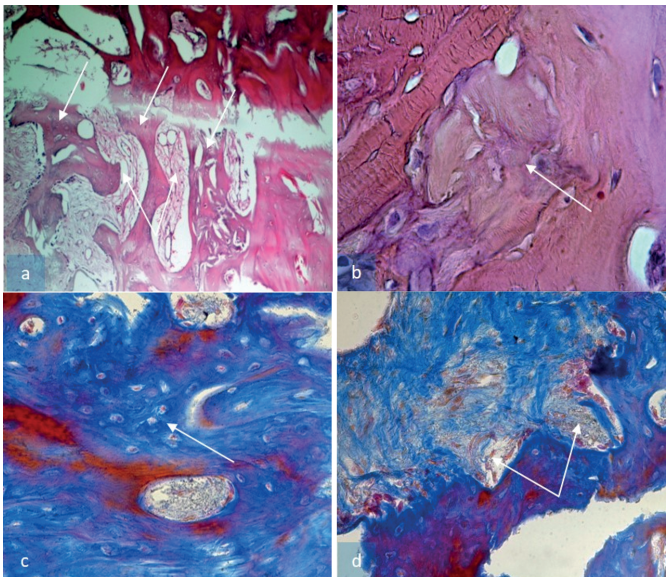


Рис. 2. Микропрепараты образцов контрольной (*a*, *b*) и основных (*c*, *d*) групп: *a* – дезорганизация костных трабекул (одиночные стрелки), атрофия гемопоэтической ткани (двойная стрелка); *b* – фокус некроза костной ткани (одиночная стрелка); *c* – деминерализация костного матрикса с оголением волокнистого компонента (одиночная стрелка); *d* – единичные зигзагообразные цементирующие линии матрикса костного вещества (двойная стрелка). Окраска гематоксилином и эозином (*a*, *b*) и по Маллори (*c*, *d*). Ок. 10. Об. 10 (*a*, *d*), Ок. 10. Об. 100 (*b*, *c*)

Fig. 2. Microscopic preparations of samples from the control (*a*, *b*) and main (*c*, *d*) groups: *a* – disorganization of bone trabeculae (single arrows), atrophy of hematopoietic tissue (double arrows); *b* – focus of bone tissue necrosis (single arrow); *c* – demineralization of bone matrix with exposure of the fibrous component (single arrow); *d* – isolated zigzag cementing lines of the bone matrix (double arrows). Stained with hematoxylin and eosin (*a*, *b*) and Mallory (*c*, *d*). Ok. 10. Ob. 10 (*a*, *d*), Ok. 10. Ob. 100 (*b*, *c*)

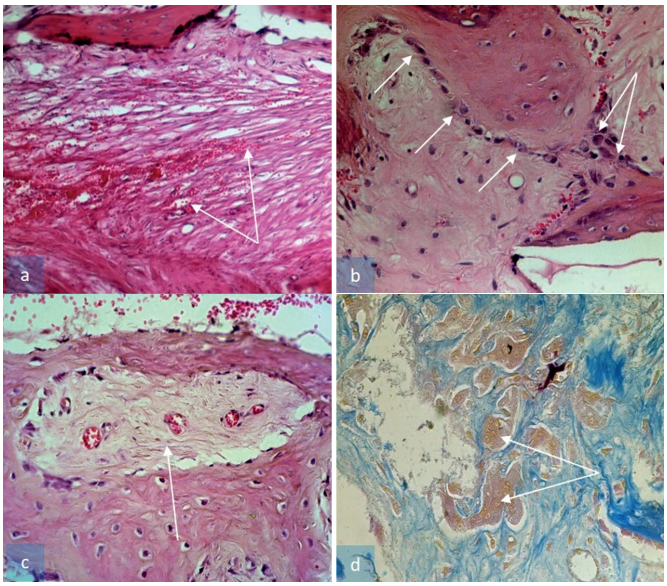


Рис. 3. Микропрепараты образцов контрольной (*a*) и основных (*b*, *c*, *d*) групп: *a* – множественные кровоизлияния в тканях периоста (двойная стрелка); *b* – остеобласты в виде частокола на поверхности трабекулы (одинарные стрелки); «сшивание» трабекул посредством остеогенного дифферона (двойная стрелка); *c* – формирование межтрабекулярной полости (одинарная стрелка); *d* – клетки фибробластического дифферона вокруг инокулированного костезамещающего материала (двойная стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 20 (*a*), Ок. 10. Об. 40 (*b*, *c*). Окраска по Маллори. Ок. 10. Об. 40 (*d*)

Fig. 3. Microscopic preparations of samples from the control (*a*) and main (*b*, *c*, *d*) groups: *a* – multiple hemorrhages in the periosteal tissues (double arrow); *b* – osteoblasts in the form of a palisade on the trabecular surface (single arrows); “stitching” of trabeculae by means of osteogenic differon (double arrow); *c* – formation of an intertrabecular cavity (single arrow); *d* – cells of fibroblast differon around the inoculated bone-substituting material (double arrow). Hematoxylin and eosin staining. Ok. 10. Ob. 20 (*a*), Ok. 10. Ob. 40 (*b*, *c*). Mallory staining. Ok. 10. Ob. 40 (*d*)

В 2-й основной группе выявлены трабекулы с небольшими островками ретикулофиброзной костной ткани, которые соединяются меду собой посредством анастомозов, однако многие трабекулы не имеют связи и растут в разных направлениях (рис. 3, *b*).

В формирующихся трабекулах обеих основных групп регистрировалась непосредственная связь с окружающей соединительной тканью в виде сшивания коллагеновых волокон и костного вещества с образованием петлевидных структур, рядом с которыми локализовались кровеносные сосуды микроциркуляторного русла, находящиеся в процессе ангиогенеза путем почкования. Кроме того, на небольшом расстоянии от сформированных сосудов локализованы очаги недифференцированных клеток в процессе аутогенного неоангиогенеза. По-нашему мнению, данная картина присуща местам образования арочных сводов из костных трабекул, а соединительная ткань с кровеносными сосудами – это будущие межтрабекулярные полости с неразвитой на стадии закладывания гемопоэтической соединительной тканью (рис. 3, *c*).

В зонах со сформированными арочными сводами из трабекул ретикулофиброзной костной ткани имелись анастомозы, а также крупные округлые межтрабекулярные полости с гемопоэтической соединительной тканью с большим количеством сосудов микроциркуляторного русла, в которых просматривались форменные элементы крови и клетки фибробластического дифферона вокруг инокулированного костезамещающего материала (рис. 3, *d*).

При ИГХ-исследовании в препаратах контрольной группы обнаружена экспрессия белка промежуточных филаментов – виментина, который выявлен в клетках фибробластического дифферона, окружающих кровеносные сосуды микроциркуляторного русла. Интенсивность экспрессии иммунореактивного материала сильная (3 балла). Тип экспрессии – мелко- и крупногранулярный цитоплазматический в виде гранул, рассеянных в цитоплазме клеток. Реакция на остальные маркеры отсутствовала.

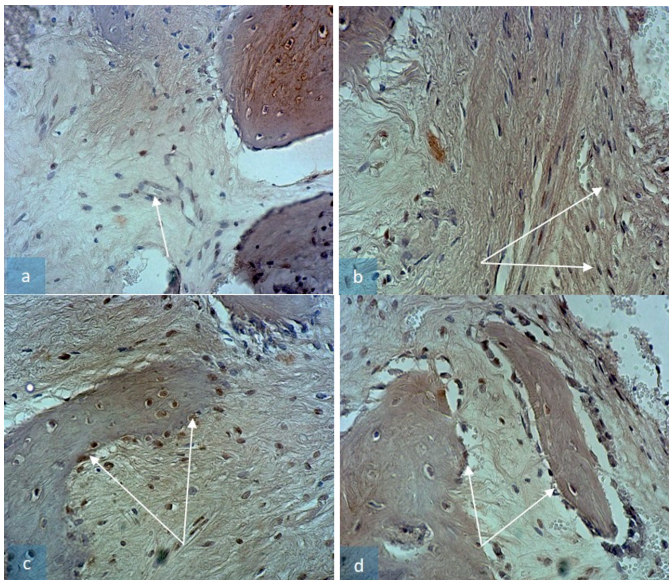


Рис. 4. Микропрепараты образцов 1-й (*a*, *c*) и 2-й (*b*, *d*) основных групп: *a* – $CD34^+$ клетки в стенке кровеносных сосудов (одинарная стрелка); *b* – $CD34^+$ клетки между коллагеновыми волокнами (двойная стрелка), ИГХ-реакция на CD34, продукт реакции коричневого цвета, Ок. 10. Об. 40 (*a*, *b*); *c* – $Ki\text{-}67^+$ клетки на поверхности костных трабекул (двойная стрелка); *d* – $Ki\text{-}67^+$ клетки возле костных трабекул, ИГХ-реакция на Ki-67, продукт реакции коричневого цвета, Ок. 10. Об. 40 (*c*, *d*)

Fig. 4. Microscopic slides of samples from the first (*a*, *c*) and second (*b*, *d*) main groups: *a* – $CD34^+$ cells in the wall of blood vessels (single arrow); *b* – $CD34^+$ cells between collagen fibers (double arrow), IHC reaction for CD34, The reaction product is brown, Ok. 10, Vol. 40 (*a*, *b*); *c* – $Ki\text{-}67^+$ cells on the surface of bone trabeculae (double arrow); *d* – $Ki\text{-}67^+$ cells near bone trabeculae. IHC reaction for Ki-67. The reaction product is brown. Ok. 10. Vol. 40 (*c*, *d*)

В 1-й основной группе между волокнами соединительной ткани визуализировались небольшие единичные округлые образования, выстланные многочисленными остеокластами, недифференцированными отростчатыми клетками и многоядерными гигантскими клетками, в которых насчитывалось до 15 ядер. Внутри данные образования представлены частичками от имплантированного β-трикальцийфосфата.

В 2-й основной группе вокруг капсулы из клеток обнаружена капиллярная сеть, одиночные остеокласты и гигантские клетки с фагоцитированным материалом, окруженным молодыми коллагеновыми волокнами, недифференцированными клетками, в цитоплазме которых также выявлялись частички имплантированного материала. Рядом с данными очагами регистрировались единичные картины прямого остеогенеза на стадии скелетогенного островка из недифференцированных отростчатых клеток с материалом в цитоплазме.

При ИГХ-исследовании тканей обеих основных групп выявлены маркеры $CD34^+$, NSE^+, EMA^+, $Ki\text{-}67^+$, экспрессия которых оказалась наибольшей в зоне оперативного вмешательства в 2-й группе (костный коллаген).

Интенсивность экспрессии иммунореактивного материала $CD34^+$ умеренная (2 балла), мембранно-редуцированный тип экспрессии – распределение иммунореактивности только на отдельных участках клеточной мембраны (рис. 4, *a*).

$CD34^+$ клетки регистрировались в основном в стенке сосудов микроциркуляторного русла, расположенных около формирующихся трабекул ретикулофиброзной костной ткани или одиночными элементами между коллагеновыми волокнами соединительной ткани. $CD34^+$ клетки имели вытянутую форму, крупное вытянутое ядро (рис. 4, *b*).

Интенсивность экспрессии иммунореактивного материала $Ki\text{-}67^+$ умеренная (2 балла), тип экспрессии – равномерный ядерный.

В препаратах обеих основных групп $Ki\text{-}67^+$ клетки оказались локализованы повсеместно: в единичных лакунах ретикулофиброзной костной ткани и на поверхности кости, в стенке сосудов микроциркуляторного русла (рис. 4, *c*), между волокнами соединительной ткани.

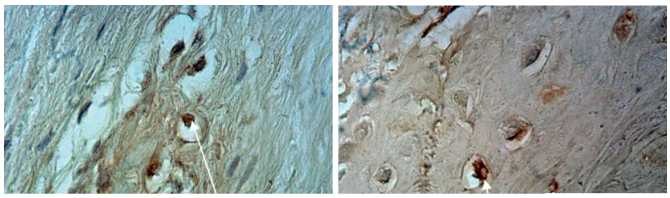


Рис. 5. Микропрепараты образцов 1-й (*a*, *c*) и 2-й (*b*, *d*) основных групп: *a* – EMA$^+$ клетки на поверхности костных трабекул (двойная стрелка); *b* – EMA$^+$ в толще костного матрикса (двойная стрелка), ИГХ-реакция на EMA, продукт реакции коричневого цвета, Ок. 10. Об. 100 (*a*, *b*); *c* – NSE$^+$ клетки вокруг кровеносных сосудов (двойная стрелка); *d* – NSE$^+$ клетки вокруг формирующихся кровеносных сосудов (одинарные стрелки), ИГХ-реакция на NSE, продукт реакции коричневого цвета, Ок. 10. Об. 100 (*c*, *d*)

Fig. 5. Microscopic preparations of samples from the first (*a*, *c*) and second (*b*, *d*) main groups: *a* – EMA$^+$ cells on the surface of bone trabeculae (double arrow); *b* – EMA$^+$ in the thickness of the bone matrix (double arrow), IHC reaction to EMA, The reaction product is brown, Ok. 10. Vol. 100 (*a*, *b*); *c* – NSE$^+$ cells around blood vessels (double arrow); *d* – NSE$^+$ cells around forming blood vessels (single arrows), IHC reaction to NSE, The reaction product is brown, Ok. 10. Vol. 100 (*c*, *d*)

Ki-67$^+$ клетки имели крупное гиперхромное округло-шаровидное ядро, цитоплазма в клетках слабо выражена (рис. 4, *d*).

Интенсивность экспрессии иммунореактивного материала EMA$^+$ сильная (3 балла), тип экспрессии – мелкогранулярный цитоплазматический (экспрессия в виде гранул, рассеянных в цитоплазме клеток).

В 1-й основной группе EMA$^+$ клетки обнаружены в формирующихся скелетогенных островках на второй стадии прямого остеогенеза (рис. 5, *a*). Они оказались локализованы в петлях соединительной ткани, прикрепленных к оссеомукоиду (органической матрице костной ткани). В 2-й основной группе EMA$^+$ клетки регистрировались исключительно в костных лакунах ретикулофиброзной костной ткани, в основном на периферии толщи костного матрикса на месте дифференцирующихся остеобластов (рис. 5, *b*).

В обеих основных группах EMA$^+$ клетки имели слабоотростчатую форму в виде звезды, крупное округлое ядро, в цитоплазме обнаруживались микровезикулы.

Интенсивность экспрессии иммунореактивного материала NSE$^+$ сильная (3 балла), тип экспрессии – мелкогранулярный цитоплазматический (экспрессия в виде гранул, рассеянных в цитоплазме клеток). NSE$^+$ клетки регистрировались повсеместно одиночными элементами или по 2–3 клетки, которые располагались рядом друг с другом (рис. 5, *c*). Клетки оказались локализованы между коллагеновыми волокнами около кровеносных сосудов, свободно в соединительной ткани и скоплениями в местах неоангиогенеза сосудов микроциркуляторного русла (рис. 5, *d*).

В обеих основных группах NSE$^+$ клетки нейроэктодермального происхождения имели округло-вытянутую форму, крупное ядро, отросчатую или вытянутую цитоплазму.

Обсуждение. Современные исследования подчеркивают важность плюрипотентных клеток в процессах регенерации и ремоделирования костной ткани. Плюрипотентные стволовые клетки, экспрессирующие маркеры CD34$^+$, EMA$^+$ и NSE$^+$, обладают способностью к самообновлению и дифференцировке в различные клеточные линии, что делает их перспективным объектом для регенеративной медицины [19–21].

Регенераторный потенциал костной ткани при экспериментальном периимплантите оказался на достаточно высоком уровне, особенно в 1-й и 2-й основных группах, где костные дефекты заполнялись β-трикальцийфосфатом и костным коллагеном, что подтверждается рядом аналогичных исследований [22–24].

Обнаруженная экспрессия в $CD34^+$ клетках кровеносных сосудов является подтверждением активизации неоангиогенеза в зоне оперативного вмешательства как путем почкования, так и аутогенным путем [25]. Визуализация $Ki\text{-}67^+$ клеток по всей площади изучаемых препаратов 1-й и 2-й основной групп, по-нашему мнению, является доказательством активной пролиферации клеточных элементов в зоне оперативного вмешательства как ответ на индукцию имплантированных β-трикальцийфосфата и костного коллагена.

Наличие EMA^+ клеток в формирующейся и сформированной ретикулофиброзной костной ткани, по-видимому, связано с источником происхождения данных клеток (из эктомезенхимы) и является доказательством дифференцировки мезенхимального пула костной пластинки нижней челюсти в остеобласты под действием имплантированных костезамещающих материалов [26–28]. Высокий уровень экспрессии NSE^+ клеток в обеих основных группах, по-видимому, также является признаком дифференцировки нейронов [29] или глии [30].

Заключение. В результате исследования установлена точная локализация и определена высокая активность плюрипотентных клеток в зоне периимплантного дефекта под влиянием костезамещающих материалов на основе β-трикальцийфосфата и костного коллагена. Имплантированный β-трикальцийфосфат и костный коллаген не обладают острой цитотоксичностью, а, наоборот, являются биосовместимыми, остеоиндуктивными и полностью биорезорбируемыми материалами, так как при их применении регистрируются процессы активной пролиферации зрелой соединительной ткани, процессы прямого остеогенеза с формированием ретикулофиброзной костной ткани, неоангиогенез с образованием гемопоэтической соединительной ткани. Выявленные маркеры $CD34^+$, NSE^+, EMA^+, $Ki\text{-}67^+$, экспрессия которых обнаружена в зоне оперативного вмешательства, доказывает остеоиндуктивные свойства имплантированных материалов на клеточном и тканевом уровне, причем активная мобилизация и пролиферация клеток, ответственных за регенерацию кости при экспериментальном периимплантите, приводит к активации мезенхимального и гемопоэтического стволового компартмента костной пластинки нижней челюсти уже через 2 месяца после начала эксперимента.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Hard and soft tissue regeneration of severe peri-implantitis defects with the laser-assisted peri-implant defect regeneration technique: 3-year results / R. Noelken, L. Westphal, E. Schiegnitz, B. Al-Nawas // International Journal of Implant Dentistry. – 2023. – Vol. 9, N 1. – Art. 3. https://doi.org/10.1186/s40729-023-00467-1

2. Commercialization and regulation of regenerative medicine products: Promises, advances and challenges / N. Beheshtizadeh, M. Gharibshahian, Z. Pazhouhnia [et al.] // Biomedicine and Pharmacotherapy. – 2022. – Vol. 153. – Art. 113431. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113431

3. Peri-Implantitis: A Clinical Update on Prevalence and Surgical Treatment Outcomes / A. Roccuzzo, A. Stähli, A. Monje [et al.] // Journal of Clinical Medicine. – 2021. – Vol. 10, N 5. – Art. 1107. https://doi.org/10.3390/jcm10051107

4. Rubnikovich, S. P. Morphological changes in bone tissue around dental implants after low-intensity ultrasound applications / S. P. Rubnikovich, I. S. Khomich, Yu. L. Denisova // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2020. – Т. 17, № 1. – С. 20–27.

5. Clinical, radiographic, and histological analyses after transplantation of crest-related palatal-derived ectomesenchymal stem cells (paldscs) for improving vertical alveolar bone augmentation in critical size alveolar defects / W. D. Grimm, W. A. Arnold, S. W. Sirak [et al.] // Journal of Clinical Periodontology. – 2015. – Vol. 42, N S17, poster P0986. – P. 366.

6. Arcos, D. Substituted hydroxyapatite coatings of bone implants / D. Arcos, M. Vallet-Regí // Journal of Materials Chemistry B. – 2020. – Vol. 8, N 9. – P. 1781–1800. https://doi.org/10.1039/c9tb02710f

7. Shang, L. Immunomodulatory Properties: The Accelerant of Hydroxyapatite-Based Materials for Bone Regeneration / L. Shang, J. Shao, Sh. Ge // Tissue Engineering. Part C, Methods. – 2022. – Vol. 28, N 8. – P. 377–392. https://doi.org/10.1089/ten.tec.2022.00111112

8. Owen, G. Rh. Hydoxyapatite/beta-tricalcium phosphate biphasic ceramics as regenerative material for the repair of complex bone defects / G. Rh. Owen, M. Dard, H. Larjava // Journal of Biomedical Materials Research. Part B, Applied Biomaterials. – 2018. – Vol. 106, N 6. – P. 2493–2512. https://doi.org/10.1002/jbm.b.34049

9. Effect of a synthetic hydroxyapatite-based bone grafting material compared to established bone substitute materials on regeneration of critical-size bone defects in the ovine scapula / J. Wüster, N. Neckel, F. Sterzik [et al.] // Regenerative Biomaterials. – 2024. – Vol. 11. – Art. rbae041. https://doi.org/10.1093/rb/rbae041

10. 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.

11. Non-surgical peri-implantitis treatment with or without systemic antibiotics: a randomized controlled clinical trial / A. Polymeri, J. van der Horst, M. D. Anssari [et al.] // Clinical Oral Implants Research. – 2022. – Vol. 33, N 5. – P. 548–557. https://doi.org/10.1111/clr.13914

12. Co–culture systems of osteoblasts and osteoclasts: Simulating in vitro bone remodeling in regenerative approaches / G. Borciani, G. Montalbano, N. Baldini [et al.] // Acta Biomaterialia. – 2020. – Vol. 108. – P. 22–45. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.03.043

13. Yuan, Z. Structure and function of vimentin in the generation and secretion of extracellular vimentin in response to inflammation / Z. Yuan, P. A. Janmey, C. A. McCulloch // Cell Communication and Signaling. – 2025. – Vol. 23, N 1. – Art. 187. https://doi.org/10.1186/s12964-025-02194-z

14. Ribatti, D. Comparative analysis of the chick embryo area vasculosa and chorioallantoic membrane as experimental models to study angiogenesis and anti-angiogenesis / D. Ribatti // Pathology – Research and Practice. – 2025. – Vol. 272. – Art. 156067. https://doi.org/10.1016/j.prp.2025.156067

15. Isgrò, M. A. Neuron-Specific Enolase as a Biomarker: Biochemical and Clinical Aspects / M. A. Isgrò, P. Bottoni, R. Scatena // Advances in Experimental Medicine and Biology. – 2015. – Vol. 867. – P. 125–143. https://doi.org/10.1007/978-94-017-7215-0_9

16. Wickramasinghe, M. L. A novel classification of bone graft materials / M. L. Wickramasinghe, G. J. Dias, K. M. G. P. Premadasa // Journal of Biomedical Materials Research. Part B, Applied Biomaterials. – 2022. – Vol. 110, N 7. – P. 1724–1749. https://doi.org/10.1002/jbm.b.35029

17. Subperiosteal Implants: A Lost Art Worth Revisiting? / R. Goh, C. Vaquette, O. Breik [et al.] // Clinical Implant Dentistry and Related Research. – 2025. – Vol. 27, N 2. – Art. e70025. https://doi.org/10.1111/cid.70025

18. Репаративная регенерация тканей пародонта – результаты экспериментального исследования / Е. В. Щетинин, С. В. Сирак, Л. А. Григорьянц [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2015. – Т. 4, № 10. – С. 411–415.

19. Prevalences of peri-implantitis and peri-implant mucositis: systematic review and meta-analysis / C.-T. Lee, Y.-W. Huang, L. Zhu, R. Weltman // Journal of Dentistry. – 2017. – Vol. 62. – P. 1–12. https://doi.org/10.1016/j.jdent.2017.04.011

20. Reosseointegration after the surgical treatment of induced peri-implantitis: systematic review on current evidence and translation from the animal to the human model / M. Lollobrigida, L. Fortunato, L. Lamazza [et al.] // Minerva Stomatologica. – 2020. – Vol. 69, N 1. – P. 37–54. https://doi.org/10.23736/s0026-4970.19.04181-5

21. Ramanauskaite, A. Efficacy of alternative or adjunctive measures to conventional non-surgical and surgical treatment of peri-implant mucositis and peri-implantitis: a systematic review and meta-analysis / A. Ramanauskaite, T. Fretwurst, F. Schwarz // International Journal of Implant Dentistry. – 2021. – Vol. 7, N 1. – Art. 112. https://doi.org/10.1186/s40729-021-00388-x

22. Efficacy of reconstructive surgical therapy at peri-implantitis-related bone defects. A systematic review and meta-analysis / C. Tomasi, E. Regidor, A. Ortiz-Vigon, J. Derks // Journal of Clinical Periodontology. – 2019. – Vol. 46, N S21. – P. 340–356. https://doi.org/10.1111/jcpe.13070

23. Bone grafts: which is the ideal biomaterial / H. J. Haugen, S. P. Lyngstadaas, F. Rossi, G. Perale // Journal of Clinical Periodontology. – 2019. – Vol. 46, N S21. – P. 92–102. https://doi.org/10.1111/jcpe.13058

24. Hard and soft tissue regeneration of severe peri-implantitis defects with the laser-assisted peri-implant defect regeneration technique: 3-year results / R. Noelken, L. Westphal, E. Schiegnitz, B. Al-Nawas // International Journal of Implant Dentistry. – 2023. – Vol. 9, N 1. – Art. 3. https://doi.org/10.1186/s40729-023-00467-1

25. Surgical treatment of peri-implantitis with or without a deproteinized bovine bone mineral and a native bilayer collagen membrane: A randomized clinical trial / S. Renvert, J.-L. Giovannoli, A.-M. Roos-Jansaker, S. Rinke // Journal of Clinical Periodontology. – 2021. – Vol. 48, N 10. – P. 1312–1321. https://doi.org/10.1111/jcpe.13513

26. Surgical treatment of peri-implantitis with or without adjunctive graft material: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials / Z.-B. Li, K. Li, M. Du [et al.] // International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. – 2023. – Vol. 52, N 1. – P. 107–117. https://doi.org/10.1016/j.ijom.2022.05.007

27. Evidence of re-osseointegration after electrolytic cleaning and regenerative therapy of peri-implantitis in humans: a case report with four implants / D. D. Bosshardt, U. R. Brodbeck, F. Rathe [et al.] // Clinical Oral Investigations. – 2022. – Vol. 26, N 4. – P. 3735–3746. https://doi.org/10.1007/s00784-021-04345-1

28. Reosseointegration Following Regenerative Therapy of Tissue-Engineered Bone in a Canine Model of Experimental Peri-Implantitis / L. Xu, X. Sun, J. Bai [et al.] // Clinical Implant Dentistry and Related Research. – 2016. – Vol. 18, N 2. – P. 379–391. https://doi.org/10.1111/cid.12308

29. Efficacy of concentrated growth factor versus collagen membrane in reconstructive surgical therapy of peri-implantitis: 3-year results of a randomized clinical trial / S. C. Isler, F. Soysal, T. Ceyhanli [et al.] // Clinical Oral Investigations. – 2022. – Vol. 26, N 8. – P. 5247–5260. https://doi.org/10.1007/s00784-022-04493-y

30. Efficacy of keratinized mucosal augmentation with a collagen matrix concomitant to the surgical treatment of peri-implantitis: A dual-center randomized clinical trial / M. Solonko, E. Regidor, A. Ortiz-Vigon [et al.] // Clinical Oral Implants Research. – 2022. – Vol. 33, N 1. – P. 105–119. https://doi.org/10.1111/clr.13870

References

1. Noelken R., Westphal L., Schiegnitz E., Al-Nawas B. Hard and soft tissue regeneration of severe peri-implantitis defects with the laser-assisted peri-implant defect regeneration technique: 3-year results. *International Journal of Implant Dentistry*, 2023, vol. 9, no. 1, art. 3. https://doi.org/10.1186/s40729-023-00467-1

2. Beheshtizadeh N., Gharibshahian M., Pazhouhnia Z., Rostami M., Rajabi Zangi A., Maleki R. [et al.]. Commercialization and regulation of regenerative medicine products: Promises, advances and challenges. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 2022, vol. 153, art. 113431. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113431

3. Roccuzzo A., Stähli A., Monje A., Sculean A., Salvi G. E. Peri-Implantitis: A Clinical Update on Prevalence and Surgical Treatment Outcomes. *Journal of Clinical Medicine*, 2021, vol. 10, no. 5, art. 1107. https://doi.org/10.3390/jcm10051107

4. Rubnikovich S. P., Khomich I. S., Denisova Yu. L. Morphological changes in bone tissue around dental implants after low-intensity ultrasound applications. *Vestsi Natsyyanal`nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceeding of the National Academy of Science of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 1, pp. 20–27.

5. Grimm W. D., Arnold W. A., Sirak S. W., Vukovich M. A., Videra D., Giesenhagen B. Clinical, radiographic, and histological analyses after transplantation of crest-related palatal-derived ectomesenchymal stem cells (paldscs) for improving vertical alveolar bone augmentation in critical size alveolar defects. *Journal of Clinical Periodontology*, 2015, vol. 42, no. S17, poster P0986, p. 366.

6. Arcos D., Vallet-Regí M. Substituted hydroxyapatite coatings of bone implants. *Journal of Materials Chemistry B*, 2020, vol. 8, no. 9, pp. 1781–1800. https://doi.org/10.1039/c9tb02710f

7. Shang L., Shao J., Ge S. Immunomodulatory Properties: The Accelerant of Hydroxyapatite-Based Materials for Bone Regeneration. *Tissue Engineering. Part C, Methods*, 2022, vol. 28, no. 8, pp. 377–392. https://doi.org/10.1089/ten.tec.2022.00111112

8. Owen G. Rh., Dard M., Larjava H. Hydoxyapatite/beta-tricalcium phosphate biphasic ceramics as regenerative material for the repair of complex bone defects. *Journal of Biomedical Materials Research. Part B, Applied Biomaterials*, 2018, vol. 106, no. 6, pp. 2493–2512. https://doi.org/10.1002/jbm.b.34049

9. Wüster J., Neckel N., Sterzik F., Xiang-Tischhauser L., Barnewitz D., Genzel A., Koerdt S., Rendenbach C., Müller-Mai Ch., Heiland M., Nahles S., Knabe Ch. Effect of a synthetic hydroxyapatite-based bone grafting material compared to established bone substitute materials on regeneration of critical-size bone defects in the ovine scapula. *Regenerative Biomaterials*, 2024, vol. 11, art. rbae041. https://doi.org/10.1093/rb/rbae041

10. 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).

11. Polymeri A., van der Horst J., Anssari M. D., Wismeijer D., Loos B. G., Laine M. L. Non-surgical peri-implantitis treatment with or without systemic antibiotics: a randomized controlled clinical trial. *Clinical Oral Implants Research*, 2022, vol. 33, no. 5, pp. 548–557. https://doi.org/10.1111/clr.13914

12. Borciani G., Montalbano G., Baldini N., Cerqueni G., Vitale-Brovarone C., Ciapetti G. Co-culture systems of osteoblasts and osteoclasts: Simulating in vitro bone remodeling in regenerative approaches. *Acta Biomaterialia*, 2020, vol. 108, pp. 22–45. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.03.043

13. Yuan Z., Janmey P. A., McCulloch C. A. Structure and function of vimentin in the generation and secretion of extracellular vimentin in response to inflammation. *Cell Communication and Signaling*, 2025, vol. 23, no. 1, art. 187. https://doi.org/10.1186/s12964-025-02194-z

14. Ribatti D. Comparative analysis of the chick embryo area vasculosa and chorioallantoic membrane as experimental models to study angiogenesis and anti-angiogenesis. *Pathology – Research and Practice*, 2025, vol. 272, art. 156067. https://doi.org/10.1016/j.prp.2025.156067.

15. Isgrò M. A., Bottoni P., Scatena R. Neuron-Specific Enolase as a Biomarker: Biochemical and Clinical Aspects. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2015, vol. 867, pp. 125–143. https://doi.org/10.1007/978-94-017-7215-0_9

16. Wickramasinghe M. L., Dias G. J., Premadasa K. M. G. P. A novel classification of bone graft materials. *Journal of Biomedical Materials Research. Part B, Applied Biomaterials*, 2022, vol. 110, no. 7, pp. 1724–1749. https://doi.org/10.1002/jbm.b.35029

17. Goh R., Vaquette C., Breik O., Ivanovski S., Batstone M. Subperiosteal Implants: A Lost Art Worth Revisiting? *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 2025, vol. 27, no. 2, art. e70025. https://doi.org/10.1111/cid.70025

18. 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 News of North Caucasus*, 2015, vol. 4, no. 10, pp. 411–415 (in Russian).

19. Lee C.-T., Huang Y.-W., Zhu L., Weltman R. Prevalences of peri-implantitis and peri-implant mucositis: systematic review and meta-analysis. *Journal of Dentistry*, 2017, vol. 62, pp. 1–12. https://doi.org/10.1016/j.jdent.2017.04.011

20. Lollobrigida M., Fortunato L., Lamazza L., Serafini G., De Biase A. Reosseointegration after the surgical treatment of induced peri-implantitis: systematic review on current evidence and translation from the animal to the human model. *Minerva Stomatologica*, 2020 vol. 69, no. 1, pp. 37–54. https://doi.org/10.23736/s0026-4970.19.04181-5

21. Ramanauskaite A., Fretwurst T., Schwarz F. Efficacy of alternative or adjunctive measures to conventional non-surgical and surgical treatment of peri-implant mucositis and peri-implantitis: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Implant Dentistry*, 2021, vol. 7, no. 1, art. 112. https://doi.org/10.1186/s40729-021-00388-x

22. Tomasi C., Regidor E., Ortiz-Vigon A., Derks J. Efficacy of reconstructive surgical therapy at peri-implantitis-related bone defects. A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Periodontology*, 2019, vol. 46, no. S21, pp. 340–356. https://doi.org/10.1111/jcpe.13070

23. Haugen H. J., Lyngstadaas S. P., Rossi F., Perale G. Bone grafts: which is the ideal biomaterial. *Journal of Clinical Periodontology*, 2019, vol. 46, no. S21, pp. 92–102. https://doi.org/10.1111/jcpe.13058

24. Noelken R., Westphal L., Schiegnitz E., Al-Nawas B. Hard and soft tissue regeneration of severe peri-implantitis defects with the laser-assisted peri-implant defect regeneration technique: 3-year results. *International Journal of Implant Dentistry*, 2023, vol. 9, no. 1, art. 3. https://doi.org/10.1186/s40729-023-00467-1

25. Renvert S., Giovannoli J.-L., Roos-Jansaker A.-M., Rinke S. Surgical treatment of peri-implantitis with or without a deproteinized bovine bone mineral and a native bilayer collagen membrane: A randomized clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*, 2021, vol. 48, no. 10, pp. 1312–1321. https://doi.org/10.1111/jcpe.13513

26. Li Z.-B., Li K., Du M., Ren S.-B., Yu Y. Surgical treatment of peri-implantitis with or without adjunctive graft material: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 2023, vol. 52, no. 1, pp. 107–117. https://doi.org/10.1016/j.ijom.2022.05.007

27. Bosshardt D. D., Brodbeck U. R., Rathe F., Stumpf T., Imber J.-C., Weigl P., Schlee M. Evidence of re-osseointegration after electrolytic cleaning and regenerative therapy of peri-implantitis in humans: a case report with four implants. *Clinical Oral Investigations*, 2022, vol. 26, no. 4, pp. 3735–3746. https://doi.org/10.1007/s00784-021-04345-1

28. Xu L., Sun X., Bai J., Jiang L., Wang Sh., Zhao J., Xia L., Zhang X., Wen J., Li G., Jiang X. Reosseointegration Following Regenerative Therapy of Tissue-Engineered Bone in a Canine Model of Experimental Peri-Implantitis. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 2016, vol. 18, no. 2, pp. 379–391. https://doi.org/10.1111/cid.12308

29. Isler S. C., Soysal F., Ceyhanli T., Bakirarar B., Unsal B. Efficacy of concentrated growth factor versus collagen membrane in reconstructive surgical therapy of peri-implantitis: 3-year results of a randomized clinical trial. *Clinical Oral Investigations*, 2022, vol. 26, no. 8, pp. 5247–5260. https://doi.org/10.1007/s00784-022-04493-y

30. Solonko M., Regidor E., Ortiz-Vigon A., Montero E., Vilchez B., Sanz M. Efficacy of keratinized mucosal augmentation with a collagen matrix concomitant to the surgical treatment of peri-implantitis: A dual-center randomized clinical trial. *Clinical Oral Implants Research*, 2022, vol. 33, no. 1, pp. 105–119. https://doi.org/10.1111/clr.13870

Информация об авторах

Рубникович Сергей Петрович – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, ректор. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220083, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: rubnikovichs@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-7450-3757

Юрасов Андрей Юрьевич – ассистент кафедры. Башкирский государственный медицинский университет (ул. Ленина, 3, 450008, г. Уфа, Республика Башкортостан, Российская Федерация). E-mail: andreyyr@mail.ru. https://orcid.org/0009-0001-1663-3377

Аверьянов Сергей Витальевич – д-р мед. наук, проф., заведующий кафедрой. Башкирский государственный медицинский университет (ул. Ленина, 3, 450008, г. Уфа, Республика Башкортостан, Российская Федерация). E-mail: sergei_aver@mail.ru. https://orcid.org/0000-0003-1827-1629

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

Гатило Ирина Анатольевна – канд. мед. наук, доцент. Ставропольский государственный медицинский университет (ул. Мира, 310, 355017, г. Ставрополь, Российская Федерация). E-mail: chijgay@yandex.ru. https://orcid.org/0000-0003-0139-5094

Перикова Мария Григорьевна – канд. мед. наук, доцент. Ставропольский государственный медицинский университет (ул. Мира, 310, 355017, г. Ставрополь, Российская Федерация). E-mail: masha.perikova@yandex.ru. https://orcid.org/0000-0001-7004-3581

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

Information about the authors

Sergey P. Rubnikovich – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, Rector. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinsky Ave., 220083, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: rubnikovichs@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-7450-3757

Andrey Yu. Yurasov – Assistant of the Department. Bashkir State Medical University (3, Lenin Str., 450008, Ufa, Republic of Bashkortostan, Russian Federation). E-mail: andreyyr@mail.ru. https://orcid.org/0009-0001-1663-3377

Sergey V. Averyanov – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Bashkir State Medical University (3, Lenin Str., 450008, Ufa, Republic of Bashkortostan, Russian Federation). E-mail: sergei_aver@mail.ru. https://orcid.org/0000-0003-1827-1629

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

Irina A. Gatilo – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Stavropol State Medical University (310, Mira Str., 355017, Stavropol, Russian Federation). E-mail: chijgay@yandex.ru. https://orcid.org/0000-0003-0139-5094

Maria G. Perikova – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Stavropol State Medical University (310, Mira Str., 355017, Stavropol, Russian Federation). E-mail: masha.perikova@yandex.ru. https://orcid.org/0000-0001-7004-3581

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

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 537.312.54:[616.24-092.9:576.3]:57.085.1
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-1-19-28

Поступила в редакцию 17.04.2025
Received 17.04.2025

А. Н. Шклярова[1], М. Н. Стародубцева[2]

[1]Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси, Гомель, Республика Беларусь
[2]Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Республика Беларусь

УПРУГИЕ СВОЙСТВА И КОЛЛАГЕН-СИНТЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ФИБРОБЛАСТОВ ЛЕГКИХ ПОСЛЕ ВНЕШНЕГО ОБЛУЧЕНИЯ КРЫС В ДОЗАХ 0,1–15 Гр

Аннотация. Радиационный фиброз является одним из серьезных осложнений лучевой терапии, которое развивается в течение длительного времени после облучения. Молекулярно-клеточные механизмы, ведущие к развитию этой патологии, имеют место в значительно более ранние сроки. Ионизирующее излучение меняет свойства и функции фибробласта, являющегося основной клеткой соединительной ткани, продуцирующей белки внеклеточного матрикса. Целью исследования стало выявление с помощью методов атомно-силовой и флуоресцентной микроскопии закономерностей радиационно-индуцированных изменений модуля упругости поверхности фибробластов легкого, уровня производства клетками коллагена и их взаимосвязи при облучении рентгеновским излучением области грудной клетки крыс и 3-недельного постлучевого периода. Установлено формирование зависимого от дозы облучения механического фенотипа фибробластов, обусловленного как изменением структуры актинового кортекса, так и формированием стрессовых волокон в зоне ядра клетки. Показано, что формирование радиационно-индуцированного механического фенотипа фибробластов коррелирует с их коллаген-синтетической активностью, что позволяет предположить внутренний механизм влияния механических свойств клетки в ядерной зоне на продукцию коллагена. Полученные данные углубляют понимание молекулярно-клеточных механизмов развития радиационного фиброза.

Ключевые слова: фибробласты легкого, крыса, рентгеновское излучение, модуль упругости, АСМ, коллаген, стрессовые волокна

Для цитирования: Шклярова, А. Н. Упругие свойства и коллаген-синтетическая активность фибробластов легких после внешнего облучения крыс в дозах 0,1–15 Гр / А. Н. Шклярова, М. Н. Стародубцева // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2026. – Т. 23, № 1. – С. 19–28. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-1-19-28

Nastassia N. Shkliarava[1], Maria N. Starodubtseva[2]

[1]Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Gomel, Republic of Belarus
[2]Gomel State Medical University, Gomel, Republic of Belarus

ELASTIC PROPERTIES AND COLLAGEN-SYNTHESIZING ACTIVITY OF PULMONARY FIBROBLASTS AFTER EXTERNAL IRRADIATION OF RATS AT DOSES OF 0.1–15 Gy

Abstract. Radiation fibrosis is one of the serious complications of radiation therapy that develops over a long period after exposure. The molecular and cellular mechanisms leading to the development of this pathology take place at a much earlier time. Ionizing radiation changes the properties and functions of fibroblasts, the primary cells of connective tissue that produce extracellular matrix proteins. The study aimed to identify, using atomic force and fluorescence microscopy methods, patterns of radiation-induced changes in the elastic modulus of the pulmonary fibroblast surface, the level of collagen production by cells and their relationship following localized thoracic X-ray irradiation in rats and a 3-week post-exposure period. The formation of a dose-dependent mechanical phenotype of fibroblasts has been established, due to both changes in the structure of the actin cortex and the formation of stress fibers in the nuclear zones of cells. It has been shown that the formation of a radiation-induced mechanical phenotype of fibroblasts correlates with their collagen-synthetic ability, which suggests an internal mechanism of influence of the mechanical properties of cells in the nuclear zone on collagen production. The data obtained deepen the understanding of the molecular and cellular mechanisms of radiation fibrosis development.

Keywords: pulmonary fibroblasts, rat, X-rays, elastic modulus, AFM, collagen, stress fibers

For citation: Shkliarava N. N., Starodubtseva M. N. Elastic properties and collagen-synthesizing activity of pulmonary fibroblasts after external irradiation of rats at doses of 0.1–15 Gy. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2026, vol. 23, no. 1, pp. 19–28 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-1-19-28

© Шклярова А. Н., Стародубцева М. Н., 2026

Введение. Прогрессивное развитие методов медицинской визуализации с использованием ионизирующего излучения и их широкое применение в современной медицине увеличивает среднюю лучевую нагрузку на человека в течение его жизни. Повышение качества ранней диагностики онкологических заболеваний ведет к увеличению количества пациентов, которым требуется лучевая терапия. Ионизирующее излучение оказывает влияние на свойства и функции всех клеток облучаемого организма, в том числе и фибробластов – основных клеток соединительной ткани. Механические свойства фибробластов важны для осуществления многих клеточных процессов. В зависимости от поглощенной дозы ионизирующее излучение вызывает различные изменения параметров механических свойств клеток, что по-разному влияет на их функциональную активность. Ионизирующее излучение, в зависимости от дозы, может индуцировать преждевременное старение на клеточном, тканевом и организменном уровнях. В экспериментах *in vitro* на культуре фибробластов HFF (Human Foreskin Fibroblast) и MRC-5 (Human Fetal Lung Fibroblast) было установлено, что облучение молодых клеток рентгеновским излучением с дозой 2 Гр в течение суток вызывает изменения в экспрессии генов и сигнальных путях, сходные с процессами естественного старения, в отличие от воздействия более низких доз [1]. Облучение первичных культур фибробластов кожи крыс рентгеновским излучением с дозой 3–10 Гр вызывает повышение жесткости фибробластов, что свойственно стареющим клеткам [2, 3].

Крысы являются широко распространенной биологической моделью для изучения действия ионизирующего излучения на организм на разных уровнях его иерархии: системы, ткани и клетки. Как известно, организм крысы более радиорезистентен по сравнению с организмом человека. При самых общих оценках полулетальная доза ЛД50 для крыс в 1,7 раза выше, чем доза для человека. Научный комитет ООН по воздействиям атомной радиации (UNSCEAR) определил дозу 0,1 Гр как максимальную для малых доз в отношении эффектов, наблюдаемых для человека. Для организма крысы соответствующую дозу можно отнести к малым. Поглощенная доза играет решающую роль в выборе механизмов реакции клеток на ионизирующее излучение: доза ионизирующего излучения 0,5–10 Гр вызывает старение, а более высокая доза >10 Гр – гибель клеток [4]. Помимо величины поглощенной дозы проявление действия ионизирующего излучения на организм зависит от срока, который прошел после облучения. Первые пострадиационные ответы клеток со временем вызывают общие ответы различных систем организма. В практике лучевой терапии лучевыми реакциями (без нарушения структуры и функционирования ткани) называют такие изменения в тканях, которые проходят в течение 2–4 недель после облучения [5]. Радиационный фиброз, патологический процесс, характеризующийся чрезмерным разрастанием соединительной ткани в результате активации и трансформации фибробластов в миофибробласты, обычно возникает через 4–12 месяцев после лучевой терапии и прогрессирует в течение нескольких лет [6]. При радиационном фиброзе увеличивается жесткость ткани и органа за счет увеличения вклада упругих волокон внеклеточного матрикса, при радиационном старении фибробластов, производящих молекулярные компоненты этих волокон, увеличивается жесткость клеток. Изучение взаимосвязи процессов, имеющих место на разных стадиях и разных иерархических уровнях, позволит углубить наши знания о механизмах развития радиационного фиброза легких для выработки новых стратегий его профилактики и терапии.

Существуют различные методы оценки механических свойств клеток, среди которых атомно-силовая микроскопия (АСМ) занимает особое положение. С помощью АСМ можно изучать структурные особенности поверхности клеток, а также тестировать их механические характеристики, пространственное распределение их по поверхности и вглубь клетки, что помогает лучше понять взаимосвязи механических и структурных свойств с функциональными свойствами и состоянием клеток.

Цель исследования – выявление закономерностей радиационно-индуцированных изменений модуля упругости поверхности фибробластов легкого, уровня производства клетками коллагена и их взаимосвязи при облучении рентгеновским излучением в широком диапазоне доз (0,1–15 Гр) области грудной клетки крыс и 3-недельного постлучевого периода.

Материалы и методы исследования. Все экспериментальные работы с лабораторными животными выполнялись в соответствии с общепринятыми нормами обращения с животными

и правилами Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях, от 22.09.2010. На проведение исследования было получено одобрение комитета по этике Гомельского государственного медицинского университета (протокол № 2 от 24 марта 2021 г.). Самцы крыс линии Wistar содержались в стационарных условиях вивария Института радиобиологии НАН Беларуси, имели полноценный стандартный пищевой рацион и свободный доступ к воде, 12/12-часовой режим освещения и темноты согласно установленным нормам. На момент облучения возраст животных составлял 14 месяцев.

Однократное облучение области грудной клетки самцов крыс линии Wistar рентгеновским излучением проводили в дозах 0,1 Гр (3 крысы), 1 Гр (4 крысы) и 15 Гр (4 крысы) с использованием рентгеновского аппарата биологического назначения X-RAD320 (Precision X-Ray Inc., США) (U = 50 кВ, I = 12,5 мА, P = 2,57 сГр/мин, фильтр № 1 (2 мм Al), расстояние до объекта – 50 см). Нижнюю половину туловища и голову экранировали свинцовыми защитными пластинками. Выведение животных из эксперимента проводили на 21-е сутки после облучения. Контрольную группу представляли 3 крысы, содержащиеся в тех же условиях, что и остальные, исключая облучение. Долю легкого промывали дважды в растворе Хэнкса (Gibco, США), затем измельчали ножницами и помещали в эппендорф объемом 2 мл, содержащий 0,1%-й раствор коллагеназы (30 мин, 37 °C) с последующей отмывкой в растворе Хэнкса. Ферментативное расщепление проходило с использованием 0,25%-го раствора трипсина при температуре 37 °C с последующим центрифугированием [7]. После этого образцы легкого помещали в 6-луночный планшет вместе со средой DMEM/F-12 (Capricorn Scientific, Германия) с добавлением 10%-й сыворотки (Gibco, США) и 1%-го раствора антибиотик-антимикотика (Capricorn Scientific, Германия) до полного выхода клеток. Пересадка культур проводилась дважды в неделю при 80 % конфлюентности. Всего в работе было использовано 14 первичных культур фибробластов легкого крысы на этапе 2-го пассажа. За день до эксперимента клетки в количестве 20 тыс. высаживались в чашки Петри с адгезионной поверхностью (Sarstedt, Германия).

Для иммунофлуоресценции клетки фиксировали с помощью 3,7%-го раствора формальдегида 10 мин при комнатной температуре, а затем двукратно отмывали фосфатно-солевым буфером. Для пермеабилизации в течение 5 мин применяли 0,1%-й раствор Triton (Carl ROTH, Германия) и дважды отмывали фосфатно-солевым буфером. Для окраски коллагена использовали антитела, конъюгированные с Alexa Fluor 647 (Abcam, Великобритания) (1 : 100) с инкубацией в течение 30 мин при комнатной температуре и с последующей отмывкой в фосфатно-солевом растворе 2 раза. Для окраски F-актина клетки инкубировали с фаллоидином, конъюгированным с флуоресцентным красителем Phalloidin-iFluor™ 488 Conjugate (Cayman Chemical, США) (1 : 50), в течение 1 ч при комнатной температуре с отмывкой фосфатно-солевым раствором 2 раза и 1 раз дистиллированной водой. Ядра клеток окрашивали монтирующей средой с 4′,6-диамидино-2-фенилиндолом (Fluoromount-G, с DAPI, Invitrogen, США). Флуоресцентные изображения получали с помощью инвертированного светового микроскопа Axio Observer 3 (Zeiss, Германия) со светодиодным источником света Colibri 7 с записью изображений в программе Zen Blue с 40-кратным увеличением объектива (λ_{ex} = 353 нм и λ_{em} = 465 нм для DAPI; λ_{ex} = 493 нм и λ_{em} = 517 нм для AF488; λ_{ex} = 653 нм и λ_{em} = 668 нм для AF647). Флуоресцентные изображения были проанализированы с помощью программного обеспечения Fiji v.2.0.0-rc-49/1.51a путем выбора одной клетки за раз на изображении и измерения площади, интегрированной плотности и среднего значения серого. Данные представляли как результат расчета скорректированной общей флуоресценции клеток: *CTCF* = интегрированная плотность – (площадь выбранной клетки × средняя флуоресценция фоновых показаний).

Для проведения АСМ клетки за день до эксперимента высаживали в чашки Петри с адгезионной поверхностью (Sarstedt, Германия) в количестве 20 тыс. Перед сканированием их промывали фосфатно-солевым буферным раствором, сканировали клеточные образцы в растворе Хэнкса. Сканирование образцов в жидкой среде проводили с помощью АСМ BioScope Resolve (Bruker, США) в режиме MIROview PeakForce QNM in Fluid или Force Volume иглой-зондом NSG03 (TipsNano, NT-MDT, Эстония), изготовленной из кремния (резонансная частота – 90 кГц, жесткость консоли – 1,74 Н/м). Кантилевер покрыт Au для увеличения сигнала лазера.

Запись малых участков поверхности клеток над ядром размером 15 × 15 мкм^2 проводили с разрешением 20 × 20 пикселей. Структурные и механические свойства клеток оценивали по полученным АСМ-изображениям, используя программу Nanoscope Analysis v.1.8.

Статистическую обработку данных и построение графиков осуществляли с помощью программы OriginPro v.2019b и статистического онлайн-калькулятора Statistics Kingdom (Мельбурн, Австралия). При статистическом анализе данных использовали тест Шапиро – Уилка – на нормальность; *U*-критерий Манна – Уитни – для сравнения средних двух выборок; критерий Краскелла – Уоллиса с post hoc анализом с поправкой Бонферрони – Данна или критерий ANOVA с post hoc анализом с критерием Тьюки – для сравнения средних нескольких выборок.

Результаты и их обсуждение. На рис. 1 представлены типичные АСМ-изображения клеток первичных культур фибробластов, полученных из легкого крыс после их облучения и 3-недель-

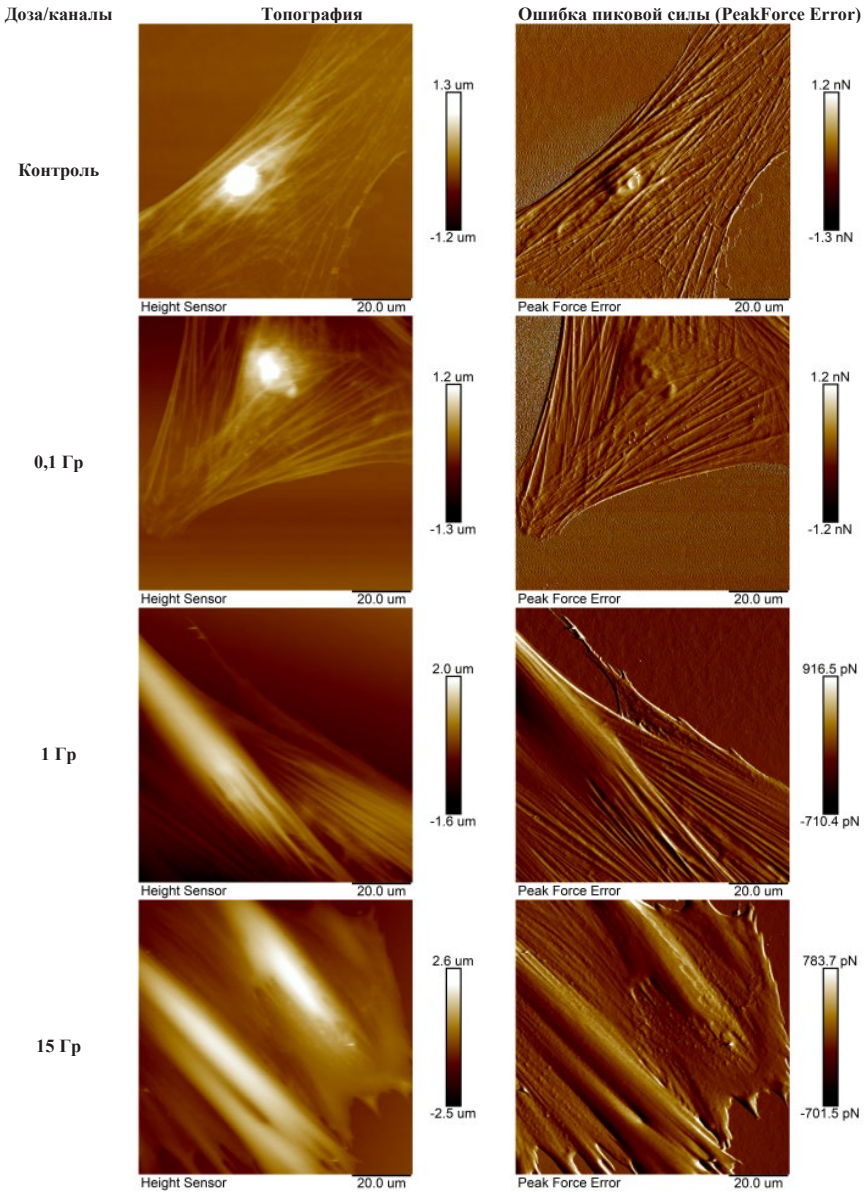


Рис. 1. АСМ-изображения первичной культуры фибробластов легкого (каналов топографии и ошибки пиковой силы) в зависимости от дозы ионизирующего излучения *in vivo*. Режим сканирования – PeakForce QNM. Размер области сканирования – 94,7 × 94,7 мкм^2, разрешение – 512 × 512 пикселей

Fig. 1. AFM images of the primary culture of pulmonary fibroblasts (Height and PeakForce Error channels) depending on the dose of ionizing radiation *in vivo*. Peak Force QNM Mode. The size of the scanning area is 94.7 × 94.7 μm^2, the resolution is 512 × 512 pixels

ного постлучевого периода, в зависимости от поглощенной дозы. Фибробласты облученных животных имеют зависимые от дозы морфологические особенности. Для фибробластов контрольной группы характерен четкий рисунок стрессовых фибрилл, направленных в основном вдоль оси поляризации клетки, и снижение их плотности в области ядра клетки. После облучения в малой дозе (0,1 Гр) описанные выше морфологические черты фибробластов сохраняются. Для больших доз (1 и 15 Гр) явно увеличена высота клеток за счет образования крупных жестких объединений стрессовых волокон, направленных вдоль оси поляризации клетки. Для дозы 15 Гр на АСМ-изображениях дополнительно визуализируются множественные мелкие гранулы на поверхности клеток, лучше заметные на картах ошибки пиковой силы (рис. 1).

В дальнейших экспериментах мы изучали механические свойства поверхности фибробластов разных групп в области над ядром с помощью режима сканирования Force Volume. Размеры области сканирования были выбраны как 15 × 15 мкм^2 с разрешением 20 × 20 пикселей, что дало размер единичной ячейки тестируемой поверхности 750 × 750 нм^2. Длина стрессовых волокон обычно составляет несколько десятков микрон, а их поперечное сечение – до 1 мкм [8]. Следовательно, выбранные в работе параметры сканирования позволяют различить распределение стрессовых волокон в поверхностном слое клеток.

При оценке методом АСМ параметров механических свойств поверхности фибробластов необлученных и облученных крыс выявлено значительное ослабление упругих свойств поверхностного слоя фибробластов после облучения верхней части животных внешним рентгеновским излучением в дозах 0,1 и 1 Гр в сравнении с необлученным контролем. Модуль упругости поверхности живых клеток контрольной группы составил E = 7,52 ± 0,32 кПа (95 % ДИ). Статистический анализ полученных данных показал существенное ослабление упругих свойств поверхности клеток после облучения как в дозе 0,1 Гр (E = 6,69 ± 0,20 кПа (95 % ДИ)), так и в дозе 1 Гр (E = 6,86 ± 0,44 кПа (95 % ДИ)) (p = 0,0313, критерий ANOVA, критерий Тьюки). Наблюдаемый эффект ослабления упругих свойств при дозе 1 Гр и ниже отличается от результатов оценки влияния рентгеновского излучения *in vitro* на модуль упругости фибробластов из кожи крыс [2]. При облучении *in vitro* (1–10 Гр) ослабления упругих свойств поверхности фибробластов, оцениваемых с использованием фиксированных и высушенных образцов клеток, не установлено, имело место только увеличение значения модуля упругости [2]. В представленном здесь исследовании постепенное увеличение среднего значения модуля упругости поверхности ядерной области наблюдалось с повышением дозы от 0,1 до 15 Гр (рис. 2, *a*). При облучении крыс в дозе 15 Гр модуль упругости составил E = 7,61 (6,75; 9,02) кПа (Me (LQ; UQ)).

На рис. 2, *a* видно, что для образца 15 Гр имеет место увеличение степени неоднородности значений модуля упругости, проявляющееся в увеличении вклада высоких значений модуля (увеличение части синего прямоугольника над медианным значением). Более глубокий анализ данных показывает, что медианные значения модуля можно связать с упругими свойствами клеточного кортекса, содержащего в основном актиновый цитоскелет, а увеличенные значения модуля упругости в распределении модуля для образца 15 Гр можно связать с появлением в зоне ядра стрессовых волокон, обладающих высокими упругими свойствами.

В связи с выявленным по АСМ-изображениям целых фибробластов формированием стрессовых волокон области ядра нами был проведен анализ распределения значений модуля упругости участка поверхности фибробласта в ядерной области в зависимости от расстояния от самой высокой точки области сканирования (и клетки в целом). На рис. 2, *b*, *d*, *f* представлены АСМ-изображения поверхности фибробластов в ядерной области, полученные в режиме Force Volume, а на рис. 2, *c* – схема условного разделения трехмерной поверхности клетки в области сканирования на несколько зон в зависимости от удаления (параметр d) от самой высокой точки клетки в районе ядра. На рис. 2, *e* приведены зависимости значений модуля упругости от параметра d для фибробластов первичных культур животных, облученных в разных дозах. В ядерной зоне модуль упругости повышается с увеличением дозы от 0,1 до 15 Гр. При дозе 15 Гр наблюдается резкий скачок повышения модуля упругости поверхности фибробластов в самом высоком месте – непосредственно над ядром. Однако, как показывают топографические изображения участков поверхности фибробластов крыс, облученных в дозе 15 Гр, наиболее выступающими обла-

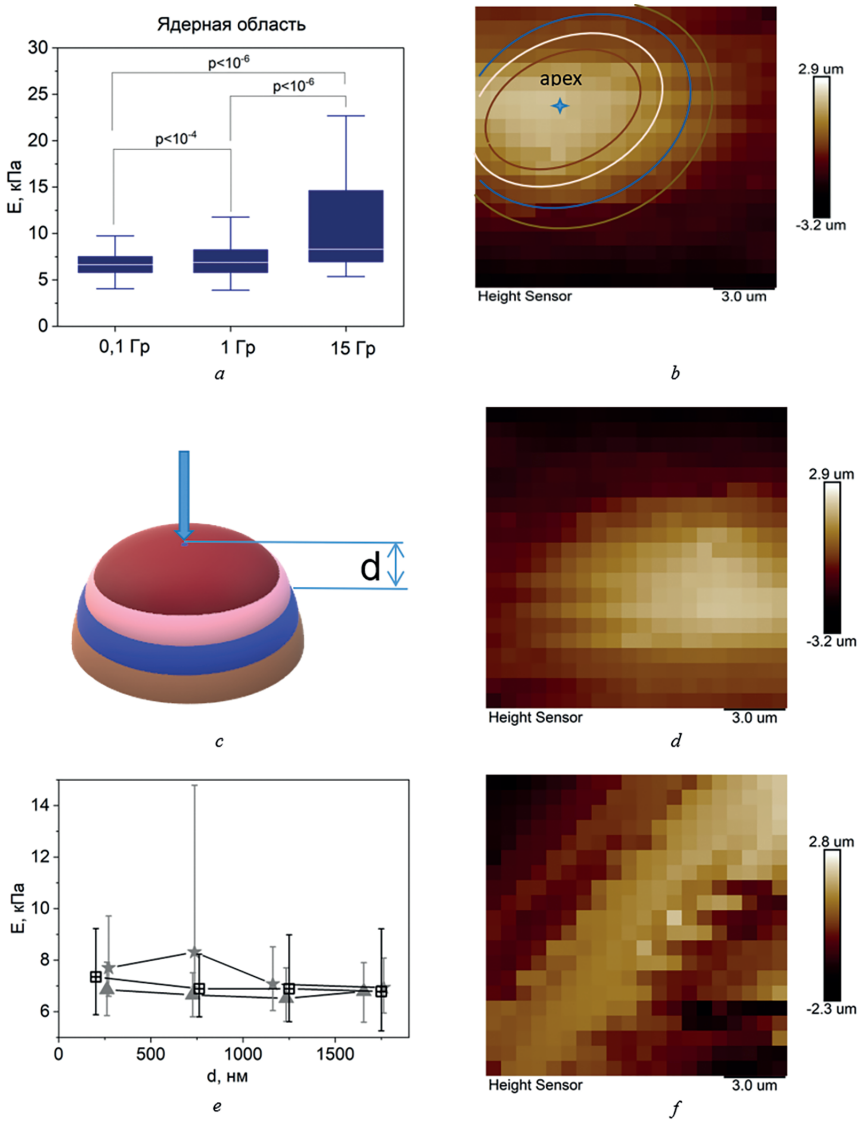


Рис. 2. Влияние локального облучения крыс рентгеновским излучением на механические свойства поверхности фибробластов первичных культур, выделенных из легкого: *a* – зависимость модуля упругости участков поверхности фибробластов над ядром от дозы облучения (данные представлены как медиана, нижний, верхний квартили, минимальные и максимальные значения. Критерий Краскелла – Уоллиса, множественные сравнения с поправкой Бонферрони – Данна); *b* –топографическое АСМ-изображение участка поверхности фибробласта контрольного образца (4-конечной звездой указана наивысшая по высоте точка участка поверхности фибробласта, окружностями представлены условные уровни, равноудаленные от вершины); *c* – схематическое представление участка поверхности клетки в зоне над ядром с высшей точкой и слоями, равноудаленными от вершины толщиной *d*; *d* – топографическое АСМ-изображение участка поверхности фибробласта первичной культуры, выделенной из легкого крысы, облученной в дозе 1 Гр; *e* – модуль упругости поверхности фибробластов в зависимости от удаления от вершины изучаемого участка поверхности (*d*) и дозы облучения крыс (треугольниками, квадратами и звездочками представлены данные для доз 0,1; 1 и 15 Гр соответственно); *f* –топографическое АСМ-изображение участка поверхности фибробласта первичной культуры, выделенной из легкого крысы, облученной в дозе 15 Гр

Fig. 2. Effect of local X-ray irradiation of rats on the mechanical properties of the surface of fibroblasts of primary cultures isolated from lung: *a* – dependence of the elastic modulus of the fibroblast surface area above the nucleus on the absorbed dose (data are presented as median, lower, upper quartiles, minimum and maximum values. The Kruskal – Wallis criterion and multiple comparisons with the Bonferroni – Dunn correction are used); *b* – topographic AFM image of the fibroblast surface area of the control sample (the four-pointed star indicates the highest point (apex) on the fibroblast surface, the circumferences represent the conditional levels equidistant from the apex); *c* – schematic representation of the cell surface area in the zone above the nucleus with the apex and layers equidistant from the apex with a thickness of *d*; *d* – topographic AFM image of the fibroblast surface area of the primary culture isolated from the lung of a rat irradiated at a dose of 1 Gy; *e* – the elastic modulus of the fibroblast surface depending on the distance from the apex of the studied surface area (*d*) and the absorbed dose (triangles, squares, and asterisks represent data for doses of 0.1, 1 and 15 Gy, respectively); *f* – topographic AFM image of the fibroblast surface area of the primary culture isolated from the lung of a rat irradiated at a dose of 15 Gy

стями клеток являются области над выраженными стрессовыми волокнами (рис. 2, *f*). Повышение жесткости поверхности клеток, сопровождающееся сборкой в клетках структур стрессовых волокон, может свидетельствовать о трансформации фибробластов в миофибробласты, которые и характеризуются повышенной экспрессией α-актина гладкомышечных клеток [9].

В работе мы также изучили производство клетками первичных культур фибробластов, изолированных из необлученных и облученных крыс, коллагена, одного из основных белков внеклеточного матрикса соединительной ткани. На рис. 3 представлены изображения флуоресцентной микроскопии с использованием красителей для выявления пространственного распределения белков коллагена и филаментного актина в фибробластах первичных культур из необлученных и облученных крыс.

Продукция коллагена была существенно повышена в фибробластах первичных культур, выделенных из легкого крыс, облученных в дозах 1 и 15 Гр в сравнении с контрольными фибробластами (рис. 4, *a*). Анализ количества филаментного актина в фибробластах облученных животных показал резкое увеличение степени полимеризации актина в фибробластах при дозе 15 Гр (рис. 4, *b*).

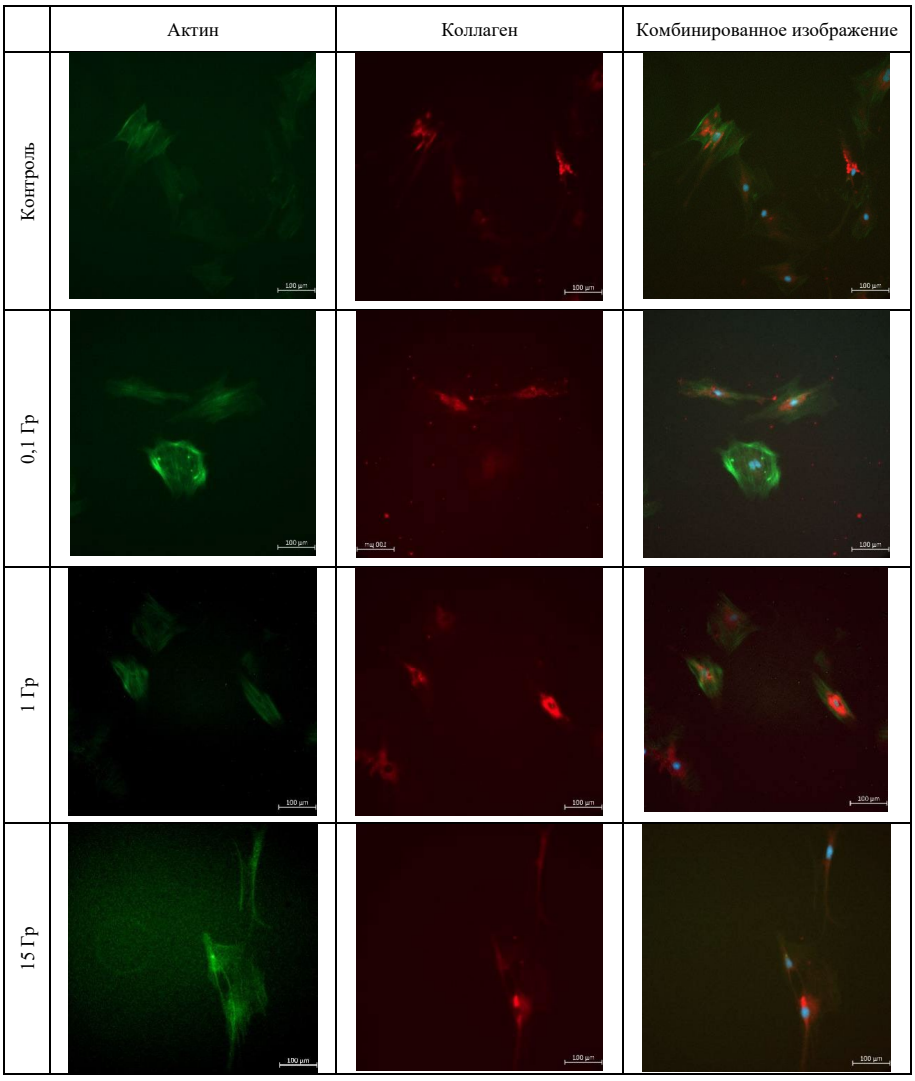


Рис. 3. Флуоресцентные изображения клеток фибробластов легкого с использованием красителей Alexa Fluor 488 Phalloidin (зеленый), Alexa Fluor 647 Collagen I типа (красный) и DAPI (голубой) в зависимости от дозы ионизирующего излучения. Размер изображения – 665,60 × 665,60 мкм^2, разрешение – 2 048 × 2 048 пикселей. Время экспозиции Alexa Fluor 488 Phalloidin – 240 мс, Alexa Fluor 647 Collagen I типа – 1,2 с, DAPI –500 мс

Fig. 3. Fluorescent images of pulmonary fibroblasts using the dyes Alexa Fluor 488 Phalloidin (green), Alexa Fluor 647 Collagen Type I (red) and DAPI (blue) depending on the dose of ionizing radiation. The image size is 665.60 × 665.60 μm^2, the resolution is 2 048 × 2 048 pixels. The exposure time was 240 ms for Alexa Fluor 488 Phalloidin, 1.2 s for Alexa Fluor 647 Collagen I Type – 500 ms for DAPI

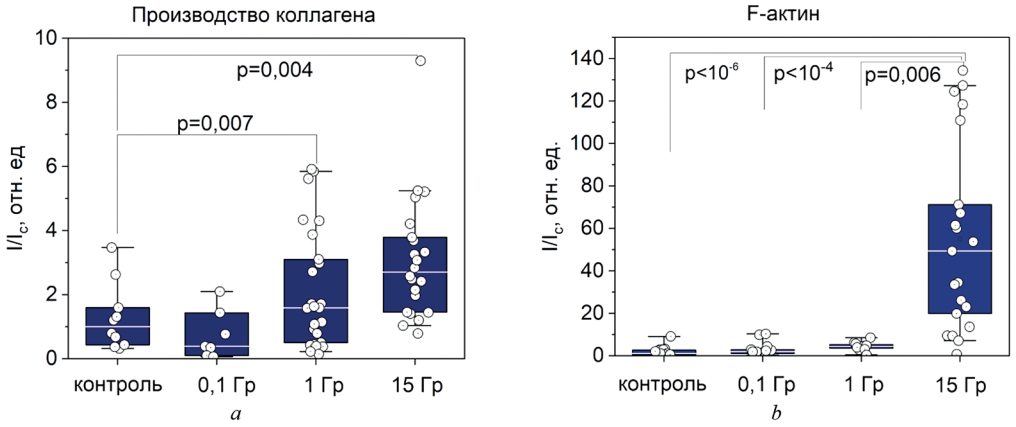


Рис. 4. Зависимость параметров производства коллагена (*a*) и полимеризации актина (*b*) в фибробластах первичных культур из легкого необлученных и облученных крыс. Данные представлены как Me (LQ; UQ) и 5–95 % перцентили. Критерий Краскелла – Уоллиса с post hoc анализом с поправкой Бонферрони – Данна

Fig. 4. Dependence of the parameters of collagen production (*a*) and actin polymerization (*b*) in fibroblasts of primary cultures from the lungs of non-irradiated and irradiated rats. The data is presented as Me (LQ; UQ) and 5–95 % percentiles. Kruskal – Wallis test with post hoc analysis with Bonferroni – Dunn test

При этом прослеживается положительная корреляционная связь между степенью полимеризации актина и дозой облучения (рис. 4, *b*; $R = 0{,}49$; коэффициент корреляции Спирмана, $p < 0{,}05$). Общая оценка средних значений произведенного клетками коллагена для крыс, облученных в дозах 0,1 и 1 Гр, не выявила существенных различий между ними. Однако данные для крыс после облучения в дозе 1 Гр сильно неоднородны и могут говорить о наличии двух субпопуляций клеток с разным уровнем производства коллагена – с высокой и низкой скоростью производства (рис. 4, *a*).

Таким образом, полимеризация актина в фибробластах в первичных культурах, выделенных из легкого крыс на 21-е сутки после облучения животных, и формирование стрессовых волокон коррелируют с повышением продукции клетками коллагена, что свидетельствует о трансформации фибробластов в миофибробласты. При этом время 50%-й выживаемости крыс после облучения верхней части туловища рентгеновским излучением в дозе 15 Гр по кривой выживаемости составляло почти 59 сут. Следовательно, наблюдаемые изменения свойств фибробластов имеют место в организме крыс в ранний период развития радиационных осложнений.

Радиационно-индуцированные изменения жесткости фибробластов, связанные с реорганизацией в них структур цитоскелета, формируют особый механический фенотип фибробластов, определяемый дозой облучения организма и постлучевым периодом, который передается дочерним клеткам при пролиферации клеток в первичной культуре. Фибробласты синтезируют белки внеклеточного матрикса, а также растворимые медиаторы, такие как цитокины, факторы роста и метаболиты. С изменением механического фенотипа фибробластов после облучения организма ионизирующим излучением скорость производства этих молекул меняется. Механизмы этого изменения сложны, но они, определенно, включают изменения механических свойств компонентов клетки и внеклеточного матрикса. Более всего известно влияние на синтетическую активность клеток изменения жесткости внеклеточного матрикса. Физические сигналы об изменении жесткости внеклеточного матрикса воспринимаются рецепторами на поверхности клетки и далее передаются внутриклеточно, запуская внутриклеточные сигнальные пути, ведущие к изменениям на уровнях транскрипции и посттранскрипции и изменениям клеточного метаболизма и поведения. Например, повышение жесткости внеклеточного матрикса при увеличенном производстве коллагена и эластина фибробластами нарушает гомеостаз внеклеточного микроокружения, что активирует механочувствительные пути клеточной сигнализации, повышающие уровни профибротических цитокинов и, следовательно, аномально активированных фибробластов с усиленной выработкой коллагеновых волокон. При этом возникает положительная обратная связь: «фиброз–повышение жесткости внеклеточного матрикса–активация фибробластов–усиление фиброза» [10]. Этот цикл обусловливает постоянство и необратимость фиброза, что усложняет задачу по предотвращению прогрессирования этой патологии [11]. В последнее время

интерес исследователей направлен также на влияние механических свойств ядра и окружения синтетических систем клетки на эффективность процессов синтеза и внутриклеточного транспорта синтезируемых клеткой молекул [12, 13]. Предполагается, что существует физическая связь между ядерным скелетом и цитоскелетом (актиновыми микрофиламентами, микротрубочками и промежуточными филаментами) [14]. Каждый из этапов синтеза и транспортировки проколлагена в клетке зависит от механических свойств клеточных элементов, вовлеченных в эти процессы. Следовательно, вероятен и внутренний механизм контроля коллаген-синтетической способности фибробластов, основанный на влиянии механических свойств ядерной области клеток на синтетическую способность фибробластов. Усиление упругих свойств области ядра способствует повышению эффективности синтеза и секреции проколлагена радиационно-измененными фибробластами, что повышает жесткость внеклеточного матрикса и запускает описанный выше цикл с положительной обратной связью, ведущий к фиброзу. Следовательно, терапевтические методы против радиационно-индуцированного фиброза могут быть направлены на недопущение повышения жесткости клеточного кортекса и формирования стрессовых волокон или на разрушение стрессовых волокон в фибробластах.

Заключение. С использованием биологической модели и методов АСМ установлено, что после облучения *in vivo* рентгеновским излучением и 3-недельного постлучевого периода имеет место формирование нового зависимого от дозы механического фенотипа фибробластов, обусловленного как изменением структуры актинового кортекса, так и формированием стрессовых волокон в зоне ядра клетки. Показано, что формирование радиационно-индуцированного механического фенотипа фибробластов коррелирует с их коллаген-синтетической активностью, что позволяет предположить внутренний механизм влияния механических свойств клетки в ядерной зоне на продукцию коллагена. Полученные данные углубляют понимание молекулярно-клеточных механизмов развития радиационного фиброза.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Авторы благодарны Е. А. Медведевой и А. Е. Сусленковой за помощь в экспериментах с животными. Работа выполнена в рамках задания «Разработать критерии оценки радиационно-индуцированных изменений ткани внутренней среды, основанной на анализе структуры и механических свойств клеточного компонента на моделях *in vitro* и *in vivo*» «Природные ресурсы и окружающая среда 3.01» ГПНИ «Природные ресурсы и окружающая среда», подпрограмма 3 «Радиация и биологические системы» на 2021–2025 гг. (№ ГР 20210231).

Acknowledgements. The authors are grateful to E. A. Medvedeva and A. E. Suslenkova for their help in experiments with animals. The work was performed within the framework of the assignment “To develop criteria for assessing radiation-induced changes in the tissue of the internal environment based on the analysis of the structure and mechanical properties of the cellular component in *in vitro* and *in vivo* models” “Natural Resources and the environment 3.01” of the State Scientific Research Program “Natural Resources and the Environment”, subprogram 3 “Radiation and biological systems” on 2021–2025 (No. GR 20210231).

Список использованных источников

1. Replicative and radiation-induced aging: a comparison of gene expression profiles / A. M. Aliper, M. E. Bozdaganyan, P. S. Orekhov [et al.] // Aging. – 2019. – Vol. 11, N 8. – P. 2378–2387. https://doi.org/10.18632/aging.101921

2. Влияние рентгеновского излучения на структурные и механические свойства поверхностного слоя фибробластов крыс / И. А. Челнокова, А. Н. Шклярова, Т. Д. Матвеенкова, М. Н. Стародубцева // Актуальные проблемы медицины: сб. науч. ст. Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием, Гомель, 10 нояб. 2023 г.: в 3 т. / Гомел. гос. мед. ун-т; редкол.: И. О. Стома [и др.]. – Гомель, 2023. – Т. 2. – С. 118–122.

3. Starodubtseva, M. N. Mechanical properties of cells and ageing / M. N. Starodubtseva // Ageing Research Reviews. – 2011. – Vol. 10, N 1. – P. 16–25. https://doi.org/10.1016/j.arr.2009.10.005

4. Extracellular matrix stiffness –The central cue for skin fibrosis / K. Wang, D. Wen, X. Xu [et al.] // Frontiers in Molecular Biosciences. – 2023. – Vol. 10. – Art. 1132353. https://doi.org/10.3389/fmolb.2023.1132353

5. Галченко, Л. И. Лучевые осложнения при лучевой терапии: учеб. пособие для студентов / Л. И. Галченко, В. В. Маточкин. – Иркутск: Иркут. гос. мед. ун-т, 2015. – 30 с.

6. Radiation-induced fibrosis: mechanisms and implications for therapy / J. F. Straub, L. New, C. D. Hamilton [et al.] // Journal of Cancer Research and Clinical Oncology. – 2015. – Vol. 141, N 11. – P. 1985–1994. https://doi.org/10.1007/s00432-015-1974-6

7. Fuentes-Mateos, R. Optimized Protocol for Isolation and Culture of Murine Neonatal Primary Lung Fibroblasts / R. Fuentes-Mateos, E. Santos, A. Fernandez-Medarde // Methods and Protocols. – 2023. – Vol. 6, N 1. – Art. 14. https://doi.org/10.3390/mps6010014

8. Deguchi, S. Biomechanical properties of actin stress fibers of non-motile cells / S. Deguchi, M. Sato // Biorheology. – 2009. – Vol. 46, N 2. – P. 93–105. https://doi.org/10.3233/bir-2009-0528

9. Unraveling SSc pathophysiology; The myofibroblast / A. van Caam, M. Vonk, F. van den Hoogen [et al.] // Frontiers in Immunology. – 2018. – Vol. 9. – Art. 2452. https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02452

10. Mechanical communication in fibrosis progression / Y. Long, Y. Niu, K. Liang, Y. Du // Trends in Cell Biology. – 2022. – Vol. 32, N 1. – P. 70–90. https://doi.org/10.1016/j.tcb.2021.10.002

11. Fisher, T. Effect of nuclear stiffness on cell mechanics and migration of human breast cancer cells / T. Fisher, A. Hayn, C. T. Mierke // Frontiers in Cell and Developmental Biology. – 2020. – Vol. 8. – Art. 393. https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00393

12. Nuclear Lamin-A Scales with Tissue Stiffness and Enhances Matrix-Directed Differentiation / J. Swift, I. L. Ivanovska, A. Buxboim [et al.] // Science. – 2013. – Vol. 341, N 6149. – Art. 1240104. https://doi.org/10.1126/science.1240104

13. Nuclear Stiffness Decreases with Disruption of the Extracellular Matrix in Living Tissues / K. P. McCreery, X. Xu, A. K. Scott [et al.] // Small. – 2021. – Vol. 17, N 6. – Art. e2006699. https://doi.org/10.1002/smll.202006699

14. Dahl, K. N. Nuclear Shape, Mechanics, and Mechanotransduction / K. N. Dahl, A. J. S. Ribeiro, J. Lammerding // Circulation Research. – 2008. – Vol. 102, N 11. – P. 1307–1318. https://doi.org/10.1161/circresaha.108.173989

References

1. Aliper A. M, Bozdaganyan M. E., Orekhov P. S., Zhavoronkov A., Osipov A. N. Replicative and radiation-induced aging: a comparison of gene expression profiles. *Aging*, 2019, vol. 11, no. 8, pp. 2378–2387. https://doi: 10.18632/aging.101921

2. Chelnokova I. A., Shklyarova A. N., Matveenkova T. D., Starodubtseva M. N. The effect of X-ray radiation on the structural and mechanical properties of the surface layer of rat fibroblasts. *Aktual'nye problemy meditsiny: sbornik nauchnykh statei Respublikanskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem (Gomel', 10 noyabrya 2023 goda). Tom 2* [Current Problems of Medicine: A Collection of Scientific Articles from the Republican Scientific and Practical Conference with International Participation (Gomel, November 10, 2023). Vol. 2]. Gomel, 2023, vol. 2, pp. 118–122 (in Russian).

3. Starodubtseva M. N. Mechanical properties of cells and ageing. *Ageing Research Reviews.* 2011, vol. 10, no. 1, pp. 16–25. https://doi.org/10.1016/j.arr.2009.10.005

4. Wang K., Wen D., Xu X., Zhao R., Jiang F., Yuan S., Zhang Y., Gao Y., Li Q. Extracellular matrix stiffness – The central cue for skin fibrosis. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 2023, vol. 10, art. 1132353. https://doi: 10.3389/fmolb.2023.1132353

5. Galchenko L. I., Matochkin V. V. *Radiation complications during radiation therapy: a textbook for students.* Irkutsk, Irkutsk State Medical University, 2015. 30 p. (in Russian).

6. Straub J. F., New L., Hamilton C. D., Lominska C., Shnayder Y., Thomas S. M. Radiation-induced fibrosis: mechanisms and implications for therapy. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 2015, vol. 141, no. 11, pp. 1985–1994. https://doi.org/10.1007/s00432-015-1974-6

7. Fuentes-Mateos R., Santos E., Fernandez-Medarde A. Optimized Protocol for Isolation and Culture of Murine Neonatal Primary Lung Fibroblasts. *Methods and Protocols*, 2023, vol. 6, no. 1, art. 14. https://doi.org/10.3390/mps6010014

8. Deguchi S., Sato M. Biomechanical properties of actin stress fibers of non-motile cells. *Biorheology*, 2009, vol. 46, no. 2, pp. 93–105. https://doi.org/10.3233/bir-2009-0528

9. Van Caam A., Vonk M., van den Hoogen F., van Lent P., van der Kraan P. Unraveling SSc pathophysiology; The myofibroblast. *Frontiers in Immunology*, 2018, vol. 9, art. 2452. https://doi: 10.3389/fimmu.2018.02452

10. Long Y., Niu Y., Liang K., Du Y. Mechanical communication in fibrosis progression. *Trends in Cell Biology*, 2022, vol. 32, no. 1, pp. 70–90. https://doi.org/10.1016/j.tcb.2021.10.002

11. Fisher T., Hayn A., Mierke C. T. Effect of nuclear stiffness on cell mechanics and migration of human breast cancer cells. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2020, vol. 8, art. 393. https://doi: 10.3389/fcell.2020.00393

12. Swift J., Ivanovska I. L., Buxboim A., Harada T., Dingal P. C. D. P., Pinter J., Pajerowski J. D., Splinler K. R., Shin J.-W., Tewari M., Rehfeldt F., Speicher D. W., Discher D. E Nuclear Lamin-A Scales with Tissue Stiffness and Enhances Matrix-Directed Differentiation. *Science*, 2013, vol. 341, no. 6149, art. 1240104. https://doi.org/10.1126/science.1240104

13. McCreery K. P., Xu X., Scott A. K., Fajrial A. K., Calve S., Ding X., Neu C. P. Nuclear Stiffness Decreases with Disruption of the Extracellular Matrix in Living Tissues. *Small*, 2021, vol. 17, no. 6, art. e2006699. https://doi.org/10.1002/smll.202006699

14. Dahl K. N., Ribeiro A. J. S., Lammerding J. Nuclear Shape, Mechanics, and Mechanotransduction. *Circulation Research*, 2008, vol. 102, no. 11, pp. 1307–1318. https://doi.org/10.1161/circresaha.108.173989

Информация об авторах

Шклярова Анастасия Николаевна – науч. сотрудник. Институт радиобиологии НАН Беларуси (ул. Федюнинского, 4, 246007, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: anshkliarava@gmail.com. http://orcid.org/0000-0002-6365-3856

Стародубцева Мария Николаевна – д-р биол. наук, доцент, профессор кафедры медицинской и биологической физики. Гомельский государственный медицинский университет (ул. Ланге, 5, 246000, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: maria.n.starodubtseva@gmail.com. https://orcid.org/0000-0002-6956-9014

Information about the authors

Nastassia M. Shkliarava – Researcher. Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus (4, Fedyuninski Str., 246007, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: anshkliarava@gmail.com. http://orcid.org/0000-0002-6365-3856

Maria N. Starodubtseva – D. Sc. (Biol.), Associate Professor, Professor of the Department of Medical and Biological Physics. Gomel State Medical University (5, Lange Str., 246000, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: maria.n.starodubtseva@gmail.com. https://orcid.org/0000-0002-6956-9014

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 616.24-002.5-036.22-085:579.873-576.385.5-539.2
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-1-29-38

Поступила в редакцию 11.06.2025
Received 11.06.2025

Н. В. Яцкевич[1], А. Н. Асташонок[2], А. Л. Иванова[1], Е. М. Скрягина[1], Н. Н. Полещук[2]

[1]Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии, Минск, Республика Беларусь
[2]Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, Минск, Республика Беларусь

КЛИНИКО-ИНСТРУМЕНТАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛЕГОЧНЫХ ФОРМ ТУБЕРКУЛЕЗА И ПАРАМЕТРЫ НАНОСТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ МИКОБАКТЕРИЙ С МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ

Аннотация. В работе проанализированы клинико-инструментальные особенности течения инфекционного процесса при туберкулезе (ТБ) легких, а также охарактеризованы архитектоника и морфогенез *Mycobacterium tuberculosis*, обладающих множественной лекарственной устойчивостью/устойчивостью к рифампицину (МЛУ/РУ), в том числе пре-широкой лекарственной устойчивостью (пре-ШЛУ).

На базе РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии проведено проспективное нерандомизированное исследование, в которое было включено 40 пациентов (30 мужчин (75,0 %), 10 женщин (25,0 %)) в возрасте от 34 лет до 61 года с МЛУ/РУ-ТБ, пре-ШЛУ-ТБ. Проведен анализ результатов микробиологического исследования диагностического материала, клинико-рентгенологического обследования включенных пациентов. Изучена архитектоника и морфогенез *M. tuberculosis*.

Установлено, что медиана (Me) [IQR] времени конверсии культуры мокроты в группе пациентов с благоприятным исходом (БИ) составила 54,0 [32,0; 83,0] дня, с неблагоприятным исходом (НИ) – 101,0 [86,8; 188,3] дня ($p < 0{,}0001$). Выявлены значимые различия в толщине слоя миколовых кислот при переходе от микобацилл (12 [10; 12] нм) к округлым морфоварам (30 [30; 37,5] нм, $p < 0{,}0001$). Показано, что коэффициент жесткости поверхности микобактерий был значительно больше в группе пациентов с НИ лечения по сравнению с пациентами с БИ лечения: Me – 58,3 [48,2; 67,6] пН/μм против Me – 7,0 [5,2; 7,4] пН/μм. Коэффициент жесткости поверхности штамма *M. tuberculosis* (*H37Rv*), чувствительного к противотуберкулезным лекарственным препаратам, составил 5–7 пН/μм.

Показано, что среди палочковидных морфоваров микобактерий отмечается смещение механически жестких зон к середине бактериальной структуры. Изменения в архитектонике миколовых кислот, появление форм с жесткой оболочкой может коррелировать с вирулентностью микобактерий и клиническим течением заболевания.

Ключевые слова: диагностика, коэффициент жесткости, лекарственная устойчивость, туберкулез

Для цитирования: Клинико-инструментальная характеристика легочных форм туберкулеза и параметры наноструктурной организации микобактерий с множественной лекарственной устойчивостью / Н. В. Яцкевич, А. Н. Асташонок, А. Л. Иванова [и др.] // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2026. – Т. 23, № 1. – С. 29–38. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-1-29-38

Natalia V. Yatskevich[1], Andrey N. Astashonok[2], Anastasia L. Ivanova[1], Elena M. Skryagina[1], Nikalay N. Poleshchuk[2]

[1]Republican Scientific and Practical Center for Pulmonology and Phthisiology, Minsk, Republic of Belarus
[2]Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Minsk, Republic of Belarus

CLINICAL FEATURES OF PULMONARY TUBERCULOSIS AND NANOSTRUCTURAL CHARACTERISTICS OF MULTIDRUG-RESISTANT *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

Abstract. To analyze clinical and instrumental features of the infectious process course in pulmonary tuberculosis (TB) and to characterize of *Mycobacterium tuberculosis* with multidrug resistance/resistance to rifampicin (MDR/RR), pre-extensively drug resistance (pre-XDR) architectonics and morphogenesis.

A prospective non-randomized study was conducted at the RSPC for Pulmonology and Phthisiology. 40 MDR/RR-TB, pre-XDR-TB patients (30 men (75.0 %), 10 women (25.0 %)) aged 34 to 61 years were included. The results of diagnostic material microbiological examination, clinical, chest X-ray examination of included patients were analyzed. The architectonics and morphogenesis of *M. tuberculosis* were studied.

Median (Me) [IQR] time to culture conversion in patients with favorable treatment outcome (FTO) was 54.0 [32.0; 83.0], with unfavorable treatment outcome (UTO) – 101.0 [86.8; 188.3] days ($p < 0.0001$). Significant differences in mycolic acid layer thickness were found when transferring from mycobacilli (12 [10; 12] nm) to rounded morphovars (30 [30; 37.5] nm, $p < 0.0001$). Mycobacterium surface stiffness coefficient was significantly higher in patients with UTO than in patients with FTO (Me – 58.3 [48.2; 67.6] pN/μm vs. Me – 7.0 [5.2; 7.4] pN/μm). The surface stiffness coefficient of the *M. tuberculosis* (*H37Rv*) strain, susceptible to anti-TB drugs, was 5–7 pN/μm.

Among bacillary mycobacteria morphovars there is a shift of mechanically rigid zones to the middle of the bacterial structure. Changes in the architectonics of mycolic acids, the appearance of forms with a rigid envelope may correlate with the virulence of mycobacteria and the clinical course of the disease.

Keywords: diagnostics, surface stiffness coefficient, drug resistance, tuberculosis

For citation: Yatskevich N. V., Astashonok A. N., Ivanova A. L., Skryagina E. M., Poleshchuk N. N. Clinical features of pulmonary tuberculosis and nanostructural characteristics of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis. Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2026, vol. 23, no. 1, pp. 29–38 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-1-29-38

Введение. Туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью/рифампицин-устойчивый туберкулез (МЛУ/РУ-ТБ), в том числе с пре-широкой лекарственной устойчивостью (пре-ШЛУ-ТБ) представляет актуальную проблему здравоохранения в мире [1].

В Беларуси заболеваемость туберкулезом (ТБ) за последние 10 лет снизилась на 65,5 % (с 39,7 до 13,7 на 100 тыс. чел.), а смертность – на 79,8 % (с 4,0 до 0,81 на 100 тыс. чел.), однако республика по-прежнему входит в число 30 стран мира с высоким бременем МЛУ/РУ-ТБ и 18 стран высокого приоритета Европейского региона ВОЗ по ТБ в связи с высоким удельным весом МЛУ/РУ-ТБ. Среди впервые выявленных пациентов уровень МЛУ/РУ-ТБ в 2024 г. составил 34,7 %, среди ранее леченных – 61,4 %.

Организация лечения пациентов с МЛУ/РУ-ТБ является сложной задачей в связи с длительностью проводимой химиотерапии, ее недостаточной эффективностью и высокими рисками инфицирования для окружающих лиц. Эффективность режимов продолжительностью 18 месяцев низкая, составила 73 % в когорте 2018 г., что выше по сравнению со средними показателем по региону (56 % – в когорте 2018 г.) [1]. Высокая токсичность данных режимов химиотерапии МЛУ-ТБ способствует развитию нежелательных явлений и низкой приверженности пациентов к лечению.

В настоящее время в Республике Беларусь наряду с режимами лечения длительностью не менее 18 месяцев применяются 9- и 6-месячные режимы в рамках операционных исследований [2]. Ежемесячно у всех пациентов с МЛУ/РУ-ТБ проводится мониторинг эффективности и безопасности химиотерапии. Однако быстрых методов определения активности возбудителя ТБ с целью определения оптимальных сроков химиотерапии не разработано.

При длительной персистенции внутри макрофагов микобактерии могут скрытно размножаться, а также переходить в фазу отсутствия роста с реактивацией через несколько лет, когда происходит цитолиз клеток и развивается иммунный ответ с появлением клинических симптомов [3, 4]. Ранее нами показано, что «персистирующие формы» *Mycobacterium tuberculosis*, подвергаясь фенотипической трансформации, приобретают необычную форму, уменьшаясь до ультрамалых и дормантных форм размером 150–300 нм, не видимых в световой микроскоп [5].

Известно, что персистеры могут возникать как при первичном инфицировании, так и при неэффективной антибиотикотерапии [6]. Для персистеров не характерна генетическая резистентность. Механизм образования персистеров в виде палочковидных, кокковидных и ультрамалых форм у *M. tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью изучен не в полной мере.

Неясно, как при формировании аномальных морфоформ распределяются поверхностные адгезины (миколовые кислоты, арабиногалактан). Нет информации о том, как эти поверхностные наноструктуры меняются, когда бактерия растет, делится и переходит в состояние персистера. Не вполне ясно, как фенотипическая изменчивость отражается на вирулентности, как выявляемые особенности помогут в выборе терапевтических воздействий и смогут ли они служить одним из диагностических и прогностических тестов при длительной терапии легочных форм ТБ.

Обозначенные нерешенные проблемы явились предметом исследований и обсуждения в нашей работе.

Материалы и методы исследования. На базе РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии проведено проспективное нерандомизированное исследование, в которое было включено 40 пациентов (30 мужчин (75,0 %), 10 женщин (25,0 %)) в возрасте от 34 лет до 61 года с МЛУ/РУ-ТБ, пре-ШЛУ-ТБ, которым было назначено лечение ТБ в соответствии со спектром лекарственной чувствительности возбудителя.

Диагноз активного ТБ легких был установлен на основании клинико-лабораторных данных: признаков интоксикации, респираторной симптоматики, рентгенологической картины, микробиологического исследования.

Исход лечения регистрировали в соответствии с критериями ВОЗ [7]: благоприятный исход (БИ) – при регистрации «Излечен» или «Лечение завершено», неблагоприятный исход (НИ) – при регистрации «Неудача лечения», «Потеря для последующего наблюдения» или «Смерть».

Выделение чистой культуры микобактерий осуществляли на плотной питательной среде (среда Левенштейна – Йенсена). Мазки для проведения микроскопии готовили из изолированных колоний, высушивали и окрашивали методом окраски по Цилю – Нильсену. При обнаружении менее 10 кислотоустойчивых бактерий (КУБ) методом микроскопии указывали их точное число в 100 полях зрения, в остальных случаях – в соответствии со следующей градацией: 1+ – от 10 до 99 КУБ в 100 полях зрения; 2+ – от 1 до 10 КУБ в 1 поле зрения; 3+ – более 10 КУБ в 1 поле зрения. Идентифицировали *M. tuberculosis complex* с применением иммунохроматографического метода, основанного на обнаружении белка MPT64. В качестве эталонного образца использовали стандартный штамм *M. tuberculosis* (*H37Rv*), чувствительный к противотуберкулезным лекарственным препаратам (ПТЛП).

Электронно-микроскопический анализ. Серийные ультратонкие срезы микобактерий просматривали в микроскопе JEM-1011 (Jeol, Япония). По результатам исследования оценивали соотношение палочковидных (ПФ) и кокковидных форм (КФ), диаметр их клеточной стенки, наличие дормантных форм, толщину слоя миколовых кислот, продукцию липидсодержащих гранул.

Приготовление подложек для адсорбции микобактерий. На первоначальном этапе одни подложки были модифицированы катионным полиэтиленимином, а другие – анионной натриевой солью полистиролсульфоната. Параллельно проводили иммобилизацию на поверхность кремниевых биочипов антител к антигенам микобактерий (Ag85, липоарабиноманнан (ЛАМ), ESAT-6).

Атомно-силовая микроскопия (АСМ). На активированную поверхность адсорбировали аликвоту микобактерий (50–70 мкл), предварительно дезактивированных 2,5%-м глутаральдегидом. Исследование проводили на микроскопе Nanoscope IIId MultiMode (Digital Instruments, Santa Barbara, США). По результатам исследования оценивали наличие кокковидных, палочковидных и других морфоваров в образце; коэффициент жесткости (пН/μм); адгезию различных морфоваров на биочипах.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программ R-studio, R v.4.4.1, Statistica 8.0, SPSS 23.0 и ресурса MedCalc (https://www.medcalc.org). Определяли медиану (Me) и интерквартильный размах (IQR) [Q25 %; Q75 %]; для категориальных показателей использовали абсолютное число и процент (*n*, %). Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0{,}05$. Для оценки различий количественных показателей между двумя независимыми группами применяли критерий Манна – Уитни, для сравнения категориальных данных – критерий χ^2 Пирсона (в том числе с поправкой Йейтса) и точный критерий Фишера. Microsoft Excel использовался для подготовки таблиц.

У 39 пациентов, у которых установлен положительный результат бактериологического исследования мокроты до начала лечения, проведена оценка зависимости сроков конверсии мокроты от длительности лечения по Каплану – Майеру.

Результаты и их обсуждение. Пациенты были разделены на 2 группы на основании исходов лечения ТБ: группа 1 состояла из 22 пациентов (15 мужчин, 7 женщин) с БИ («Излечен» или «Лечение завершено»); группа 2 – из 18 пациентов (15 мужчин, 3 женщины) с НИ («Неудача лечения», «Потеря для наблюдения» или «Смерть»).

Характеристика пациентов с МЛУ/РУ-ТБ, пре-ШЛУ-ТБ, включенных в исследование, представлена в табл. 1.

Как видно из табл. 1, дефицит массы тела был выявлен у 10 пациентов (25,0 %), рецидив ТБ – у 13 (32,5 %). В исправительном учреждении находились 14 пациентов (35,0 %), не работали на момент выявления ТБ – 20 (50,0 %). У 23 пациентов на момент выявления заболевания был установлен МЛУ/РУ-ТБ, у 17 – пре-ШЛУ-ТБ.

Таблица 1. **Характеристика пациентов, включенных в исследование, абсолютное число, %**

Table 1. **Characteristics of patients enrolled in the study, absolute number, %**

Показатель		Группа 1, *n* = 22	Группа 2, *n* = 18	Всего, *n* = 40	χ^2_{1-2}; *p*
Пол	Мужской	15 (68,2)	15 (83,3)	30 (75,0)	>0,05
	Женский	7 (31,8)	3 (16,7)	10 (25,0)	
Возраст, лет	<44	9 (40,9)	7 (38,9)	16 (40,0)	>0,05
	≥45	13 (59,1)	11 (61,1)	24 (60,0)	
Индекс массы тела менее 18,5 кг/м^2	Да	5 (22,7)	5 (27,8)	10 (25,0)	>0,05
	Нет	17 (77,3)	13 (72,2)	30 (75,0)	
Лечение ТБ в анамнезе	Да	6 (27,3)	7 (38,9)	13 (32,5)	>0,05
	Нет	16 (72,7)	11 (61,1)	27 (67,5)	
Лица без определенного места жительства	Да	1 (4,5)	1 (5,6)	2 (5,0)	>0,05
	Нет	21 (95,5)	17 (94,4)	38 (95,0)	
Употребление наркотиков	Да	1 (4,5)	2 (11,1)	3 (7,5)	>0,05
	Нет	21 (95,5)	16 (88,9)	37 (92,5)	
Безработные	Да	7 (31,8)	13 (72,2)	20 (50,0)	5,0; 0,026
	Нет	15 (68,2)	5 (27,8)	20 (50,0)	
Пребывание в исправительном учреждении	Да	5 (22,7)	9 (50,0)	14 (35,0)	>0,05
	Нет	17 (77,3)	9 (50,0)	26 (65,0)	

Таблица 2. **Сопутствующие заболевания у пациентов с МЛУ/РУ-ТБ, включенных в исследование, абсолютное число, %**

Table 2. **Comorbidities in MDR/RR-TB patients enrolled in the study, absolute number, %**

Сопутствующее заболевание		Группа 1, *n* = 22	Группа 2, *n* = 18	Всего, *n* = 40	χ^2_{1-2}; *p*
B18.0, B18.1 – хронический вирусный гепатит В с/без дельта-агента	Да	0 (0,0)	1 (5,6)	1 (2,5)	>0,05
	Нет	22 (100,0)	17 (94,4)	39 (97,5)	
B18.2 – хронический вирусный гепатит С	Да	3 (13,6)	6 (33,3)	9 (22,5)	>0,05
	Нет	19 (86,4)	12 (66,7)	31 (77,5)	
E10–E14 – сахарный диабет	Да	4 (18,2)	2 (11,1)	6 (15,0)	>0,05
	Нет	18 (81,8)	16 (88,9)	34 (85,0)	
B20–B24 – болезнь, вызванная ВИЧ	Да	2 (9,1)	3 (16,7)	5 (12,5)	>0,05
	Нет	20 (90,9)	15 (83,3)	35 (87,5)	
I20–I25 – ишемическая болезнь сердца	Да	5 (22,7)	4 (22,2)	9 (22,5)	>0,05
	Нет	17 (77,3)	14 (77,8)	31 (77,5)	
N18 – хроническая болезнь почек	Да	2 (9,1)	0 (0,0)	2 (5,0)	>0,05
	Нет	20 (90,9)	18 (100,0)	38 (95,0)	
G62.9 – полиневропатия неуточненная	Да	2 (9,1)	1 (5,6)	3 (7,5)	>0,05
	Нет	20 (90,9)	17 (94,4)	37 (92,5)	
F10.2 – психические и поведенческие расстройства, вызванные употреблением алкоголя, синдром зависимости	Да	8 (36,4)	9 (50,0)	17 (42,5)	>0,05
	Нет	14 (63,6)	9 (50,0)	23 (57,5)	

Сопутствующие заболевания у пациентов с МЛУ/РУ-ТБ, включенных в когортное исследование, представлены в табл. 2.

Как видно из табл. 2, наиболее частой сопутствующей патологией был синдром зависимости от алкоголя, который выявлялся у 17 (42,5 %) пациентов, включенных в исследование. Диагноз ишемическая болезнь сердца был установлен у 9 (22,5 %) пациентов, хронический вирусный гепатит С – у 9 (22,5 %), сахарный диабет – у 6 (15,0 %), болезнь, вызванная ВИЧ, – у 5 (12,5 %), периферическая полиневропатия – у 3 (7,5 %), хроническая болезнь почек – у 2 (5,0 %), хронический вирусный гепатит В – у 1 (2,5 %) пациента.

По данным рентгенологического исследования органов грудной клетки двусторонние изменения в легких выявлялись у 28 (70,0 %) пациентов, включенных в исследование, полости распада в легких – у 21 (52,5 %) пациента. У 1 пациента был выявлен ТБ легких (A15.1) и внутригрудных лимфоузлов (A16.3), у 1 – ТБ легких (A15.1) и ТБ уха (A18.6) (табл. 3).

Таблица 3. **Характеристика туберкулезного процесса у пациентов, включенных в исследование, абсолютное число, %**

Table 3. **Characteristics of the tuberculosis process in patients included in the study, absolute number, %**

Показатель		Группа 1, $n = 22$	Группа 2, $n = 18$	Всего, $n = 40$	χ^2_{1-2}; p
Распространенность процесса в легких	Односторонние изменения	9 (40,9)	3 (16,7)	12 (30,0)	>0,05
	Двусторонние изменения	13 (59,1)	15 (83,3)	28 (70,0)	
	Нет	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Локализация процесса	Легочный	22 (100,0)	16 (88,9)	38 (95,0)	>0,05
	Внелегочный	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
	Легочный и внелегочный	0 (0,0)	2 (11,1)	2 (5,0)	
Наличие полости распада в легких	Да	8 (36,4)	13 (72,2)	21 (52,5)	>0,05
	Нет	14 (63,6)	5 (27,8)	19 (47,5)	
Положительная микроскопия мокроты	Да	11 (50,0)	13 (72,2)	24 (60,0)	>0,05
	Нет	11 (50,0)	5 (27,8)	16 (40,0)	
Положительный посев мокроты	Да	21 (95,5)	18 (100,0)	39 (97,5)	>0,05
	Нет	1 (4,5)	0 (0,0)	1 (2,5)	

Положительный результат микроскопии мокроты был зарегистрирован у 24 (60,0 %) пациентов, положительный посев мокроты – у 39 (97,5 %). У 1 пациента *M. tuberculosis* получены только из ткани легкого.

Достоверных различий по частоте сопутствующей патологии, а также по данным рентгенологического и микробиологического обследования между группами пациентов не выявлено.

Проведен анализ скорости конверсии диагностического материала по данным бактериологического исследования (рис. 1).

Медиана времени конверсии культуры мокроты в группе пациентов с БИ составила 54,0 [32,0; 83,0] дня, с НИ – 101,0 [86,8; 188,3] дня ($p < 0,0001$). У 2 пациентов НИ был зарегистрирован до конверсии культуры мокроты.

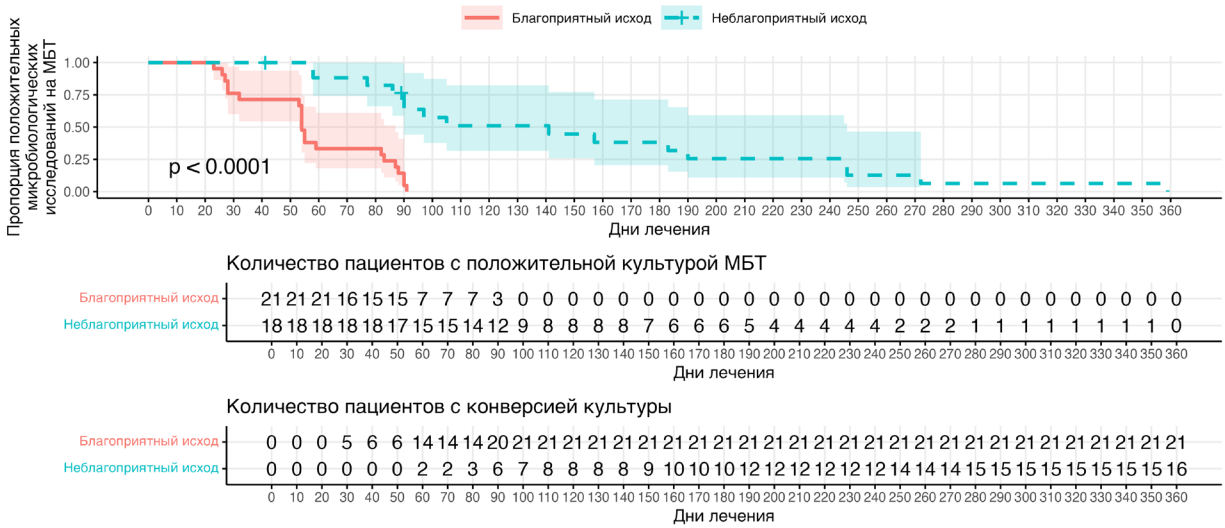


Рис. 1. Пропорция положительных микробиологических исследований на *M. tuberculosis* (ось ординат) во времени с использованием среды Левенштейна – Йенсена по Каплану – Майеру у пациентов, включенных в исследование, $n = 39$

Fig. 1. Proportion of positive microbiological examinations for *M. tuberculosis* (ordinate axis) in time using the Loewenstein – Jensen medium by Kaplan – Meier in patients included in the study, $n = 39$

Электронно-микроскопический анализ. Охарактеризована организация морфоваров *M. tuberculosis*, выделенных от пациентов анализируемых групп. Обращало внимание изменение соотношения микобактерий в культурах, полученных от пациентов группы 2, в сторону увеличения (3 : 1–5 : 1) мелких КФ размером от 0,4 до 4 мкм (рис. 2, *a*, *b*). Количество ПФ было заметно снижено. Это свидетельствовало об изменении бактериального фенотипа и трансформации отдельных морфоформ с переходом культур в фазу несбалансированного роста. Установлены различия в толщине клеточной стенки у ПФ (17 [15; 19,5] нм) и КФ (24 [21; 25] нм) в анализируемых культурах. При этом выявлены статистически значимые различия в толщине слоя миколовых кислот при переходе от микобацилл (12 [10; 12] нм) к округлым морфоварам (30 [30; 37,5] нм, $p < 0{,}0001$). Эти данные указывали на то, что морфовары с утолщенным слоем миколовых кислот, очевидно, будут более устойчивы к действию ПТЛП.

Принципиально новым явлением, отмеченным в исследовании, было появление спороподобных частиц в культурах микобактерий, полученных от пациентов из группы 2 (рис. 2).

Такие частицы были представлены в виде горошин и характеризовались высокоупорядоченными структурами внутреннего матрикса. Наши результаты показали, что ДНК плотно упакована в виде гранулированного нуклеоида вследствие компактизации генетического материала. Этот феномен, вероятно, обуславливает конформационные преобразования ДНК-фибрилл и их защиту от действия химиопрепаратов. Таким образом, гранулярный нуклеоид, по-видимому, является структурным и функциональным коррелятом стабильности ультрамалых частиц микобактерий и фактором выживания возбудителя в форме персистеров.

Среди палочковидных форм культур *M. tuberculosis* отмечены вариации в количественном соотношении липидсодержащих вакуолей во внутреннем матриксе. Их количество варьировало от единичных (1–2) до 5–7 и более. Накопление внутрицитоплазматических липидсодержащих вакуолей можно рассматривать как фактор резистентности *M. tuberculosis* при сравнении со штаммом *M. tuberculosis* (*H37Rv*), чувствительным к ПТЛП, а также как показатель вирулентности. В культурах, полученных от пациентов группы 2, регистрировались микобактерии, имеющие как единичные, так и множественные включения, что наряду с преобразованиями в клеточной стенке может свидетельствовать о более выраженной их синтетической активности.

Атомно-силовая микроскопия. Анализ экспрессии антигенов M. tuberculosis в культурах пациентов анализируемых групп. Учитывая то, что антигены *M. tuberculosis* разделяются на

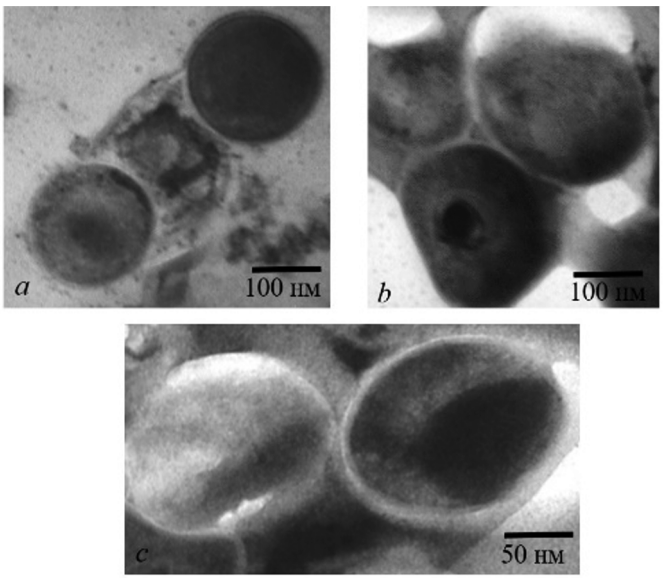


Рис. 2. Ультрамалые (дормантные) формы (*a*–*c*) *M. tuberculosis* в культурах, полученных от пациентов группы 2 (×100 000–250 000)

Fig. 2. Ultrasmall (dormant) forms (*a*–*c*) of *M. tuberculosis* in cultures obtained from patients in group 2 (×100,000–250,000)

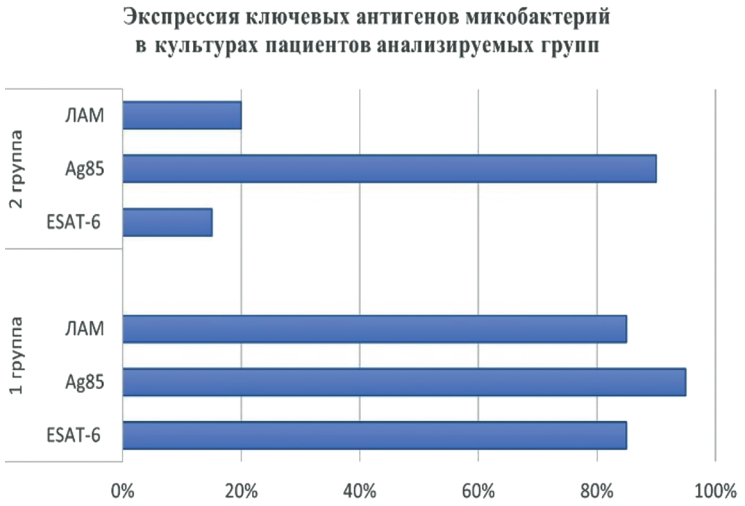


Рис. 3. Результаты анализа экспрессии антигенов (ESAT-6, Ag85, ЛАМ) среди микобактерий, полученных из культур пациентов на сконструированных биочипах

Fig. 3. Results of antigen expression analysis (ESAT-6, Ag85, LAM) among mycobacteria obtained from patient cultures on the constructed biochips

ряд групп, среди которых выделяются активно-секретируемые (Ag85, ESAT-6), связанные с клеточной стенкой (ЛАМ) и цитоплазматические, были сконструированы биочипы, различающиеся по заряду и содержащие антитела к ключевым поверхностным детерминантам возбудителя.

Результаты АСМ-анализа показали вариации в структуре морфоваров, их адгезивных свойствах, свидетельствующих о гетерогенности в распределении антигенов на поверхности возбудителя (рис. 3).

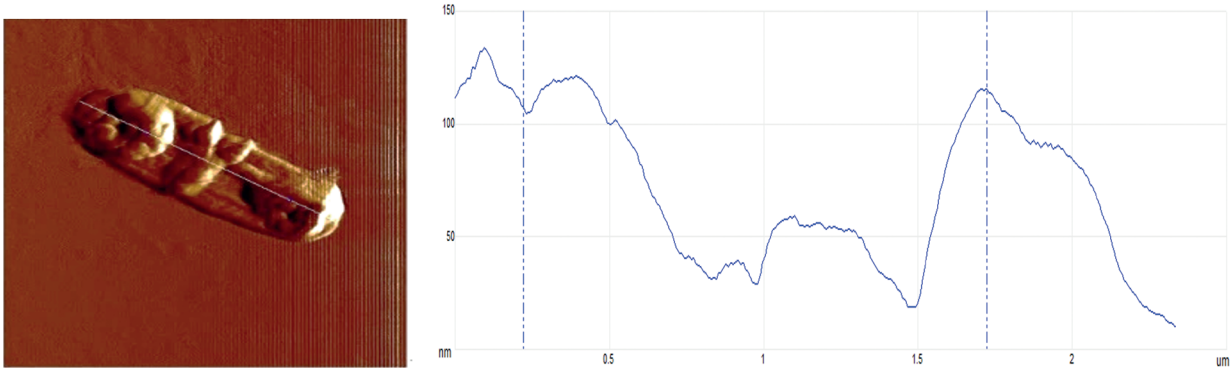
В группе культур, полученных от пациентов группы 1, все 3 иммунодоминантных антигена (ESAT-6, Ag85, ЛАМ) в большинстве своем активно экспрессировались различными морфоварами возбудителя, в том числе КФ и ПФ. В то же время у пациентов группы 2 антигены ESAT-6 и ЛАМ экспрессировались только в 15 и 20 % культур соответственно. Причем адгезия для белка ESAT-6 отмечена только у КФ.

Характеристика параметров жесткости поверхности микобактерий. АСМ использовали для точечного анализа микрорельефа возбудителя, что позволило уточнить морфовары возбудителя и наличие среди них «мягких» и «жестких» форм. Последние представляли собой определенные клеточные состояния, в которых базальная средняя жесткость клеточной поверхности варьировала в зависимости от характера воздействия иглы микроскопа. Известно, что жесткость клеточной стенки зависит от количества миколовых кислот, арабиногалактана, пептидогликанного слоя, расположенных над ригидной билипидной мембраной [6, 8, 9].

Использовали покадровый анализ перераспределения поверхностных антигенов вдоль длинной оси бактериальной структуры (рис. 4).

Отмечены вариации в жесткости преимущественно в субполярных областях. Это можно связать с тем, что отдельные морфовары возбудителя находились на стадии завершающегося деления и новый слой добавлялся за счет материала клеточной стенки полюсов. При анализе 3 независимых дискретных областей микобактериальной клетки установлены участки с механически различным материалом. Причем у пациентов группы 2 преимущественно центральная часть возбудителя (80–85 %), исходящая из середины клетки и исключающая полюса, состояла из стабильно жесткого материала клеточной поверхности (комплекса миколовых кислот и ЛАМ) (рис. 5).

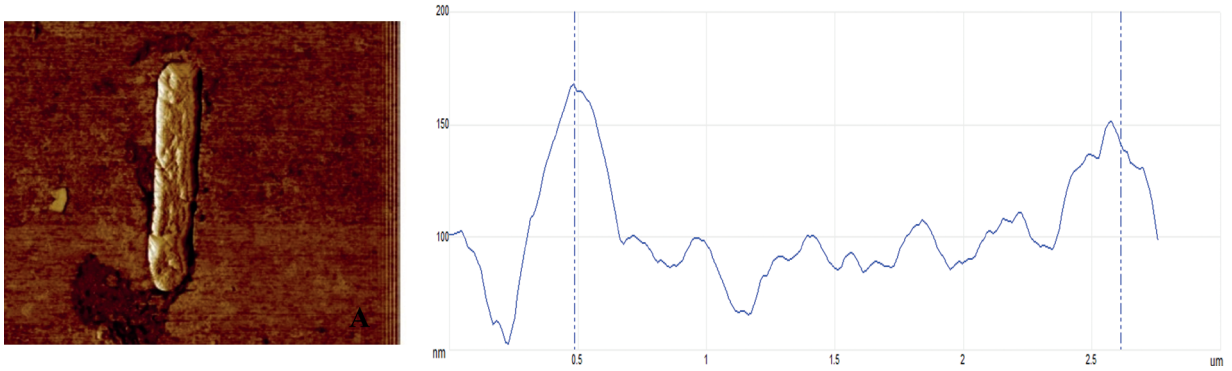
Изменение перераспределения компонентов клеточной стенки, обуславливающих ее структурированность, происходит в основном за счет формирования межионных связей между молекулами ЛАМ, миколовых кислот и арабиногалактана. Пептидогликанный слой располагается над внутренним билипидным слоем при формировании персистеров и также подвергается компактизации.



a *b*

Рис. 4. Топография поверхности ПФ *M. tuberculosis* (*a*) и анализ микропрофилей сечения бактериальной структуры (*b*) (группа 1)

Fig. 4. Surface topography of the rod-shaped form of *M. tuberculosis* (*a*) and analysis of cross-sectional microprofiles of the bacterial structure (*b*) (group 1)



a *b*

Рис. 5. Топография поверхности ПФ *M. tuberculosis* (*a*) и анализ микропрофилей сечения бактериальной структуры (*b*) (группа 2)

Fig. 5. Surface topography of the rod-shaped form of *M. tuberculosis* (*a*) and analysis of cross-sectional microprofiles of the bacterial structure (*b*) (group 2)

Некоторые исследователи полагают, что наличие дополнительных «сшивок» пептидогликана клеточной стенки имеет важное значение для поддержания стабильно жесткой поверхности возбудителя [6, 8, 9]. Субполярные области составляли 15–20 % длины клетки и содержали добавленный зарождающийся, несшитый пептидогликан, где поверхностный материал начинал постепенно увеличивать жесткость, что свидетельствовало о процессе «механического созревания» возбудителя.

В целом можно сказать, что коэффициент жесткости поверхности микобактерий группы 2 значительно превышал соответствующие значения в группе 1: Me – 58,3 [48,2; 67,6] пН/μм против Me – 7,0 [5,2; 7,4] пН/μм, $p < 0{,}0001$. Коэффициент жесткости поверхности штамма *M. tuberculosis* (*H37Rv*), чувствительного к ПТЛП, составил 5–7 пН/μм.

Таким образом, у палочковидных морфоваров группы 2 отмечается смещение механически жестких зон к середине бактериальной структуры в отличие от группы 1, где зоны жесткости, как правило, ближе к полюсам и значительно меньше. Это отражает более выраженную механическую устойчивость возбудителя и определяет его вирулентные свойства. Наличие микобактерий с аномально ригидной поверхностью может указывать на возможность выживаемости в макрофагах, и такие микробные состояния обеспечивают адаптацию к стрессорам, опосредованным хозяином.

Заключение. С помощью АСМ изучены особенности морфологии морфоваров *M. tuberculosis*, осажденных на поверхность кремниевых подложек с подслоем полиэтиленимина, а также иммобилизованных с применением антител к липоарабиноманнану, ESAT-6 и Ag85. Дана характеристика различных морфоваров микобактерий (палочковидных, кокковидных, спороподобных форм возбудителя).

Определен коэффициент жесткости поверхности микобацилл. Выявлены статистически значимые различия в коэффициенте жесткости поверхности микобактерий культур группы 2 по сравнению с культурами группы 1: Me – 58,3 [48,2; 67,6] пН/μм против Me – 7,0 [5,2; 7,4] пН/μм, $p < 0{,}0001$. Это дополнительно отражает вирулентность возбудителя и его гетерогенность. Установлено, что поверхностные рецепторы (адгезины) у разных морфоваров неодинаковы.

У ПФ, вне зависимости от профиля резистентности, закономерно сохраняется экспрессия Ag85 и частично – ЛАМ. В то же время секреторный антиген ESAT-6 может экспрессироваться только в кокковидных морфоварах при повышении вирулентности возбудителя.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Global tuberculosis report 2024 / World Health Organization. – Geneva, 2024. – 69 p. – URL: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/379339/9789240101531-eng.pdf?sequence=1 (date of access: 10.06.2025).

2. Оценка эффективности 9 и 6-месячных режимов лечения пациентов с множественно лекарственно-устойчивым или рифампицин-устойчивым туберкулезом в Республике Беларусь / Н. В. Яцкевич, Г. Л. Гуревич, Е. М. Скрягина, Э. Гурбанова // Туберкулез и болезни легких. – 2023. – Т. 101, № 6. – С. 34–41.

3. Persistence of Mycobacterium tuberculosis in response to infection burden and host-induced stressors / T. Parbhoo, H. Schurz, J. M. Mouton, S. L. Sampson // Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. – 2022. – Vol. 12. – Art. 981827. https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.981827

4. Pieters, J. Mycobacterium tuberculosis and the Macrophage: Maintaining a Balance / J. Pieters // Cell Host and Microbe. – 2008. – Vol. 3, N 6. – P. 399–407. https://doi.org/10.1016/j.chom.2008.05.006

5. Параметры структуры микомембраны и нуклеоида морфоваров *M. tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью / А. Н. Асташонок, Н. В. Яцкевич, А. Л. Иванова [и др.] // Новости медико-биологических наук. – 2024. – Т. 24, № 3. – С. 171–181.

6. Abrahams, K. A. Synthesis and recycling of the mycobacterial cell envelope / K. A. Abrahams, G. S. Besra // Current Opinion in Microbiology. – 2021. – Vol. 60. – P. 58–65. https://doi.org/10.1016/j.mib.2021.01.012

7. Consolidated guidance on tuberculosis data generation and use: module 1: tuberculosis surveillance / World Health Organization. – 2024. – URL: https://www.who.int/publications/i/item/9789240075290 (date of access: 10.06.2025).

8. The Mycobacterial Cell Wall—Peptidoglycan and Arabinogalactan / L. J. Alderwick, J. Harrison, G. S. Lloyd, H. L. Birch // Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine. – 2015. – Vol. 5, N 8. – Art. a021113. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021113

9. Meyer, F. M. Cell wall synthesizing complexes in Mycobacteriales / F. M. Meyer, M. Bramkamp // Current Opinion in Microbiology. – 2024. – Vol. 79. – Art. 102478. https://doi.org/10.1016/j.mib.2024.102478

References

1. World Health Organization. *Global tuberculosis report 2024.* Geneva, 2024. 69 p. Avaliable at: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/379339/9789240101531-eng.pdf?sequence=1 (accessed 10.06.2025).

2. Yatskevich N. V., Gurevich G. L., Skryagina E. M., Gurbanova E. Evaluation of the efficacy of 9 and 6-month treatment regimens of patients with multidrug-resistant or rifampicin-resistant tuberculosis in the Republic of Belarus. *Tuberkulez i bolezni legkikh* [Tuberculosis and lung diseases]. 2023, vol. 101, no. 6, pp. 34–41 (in Russian).

3. Parbhoo T., Schurz H., Mouton J. M., Sampson S. L. Persistence of Mycobacterium tuberculosis in response to infection burden and host-induced stressors. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2022, vol. 12, art. 981827. https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.981827

4. Pieters J. Mycobacterium tuberculosis and the Macrophage: Maintaining a Balance. *Cell Host and Microbe*, 2008, vol. 3, no. 6, pp. 399–407. https://doi.org/10.1016/j.chom.2008.05.006

5. Astashonok A. N., Yatskevich N. V., Ivanova A. L., Skryagina E. M., Zhavnerko G. K., Poleshchuk N. N. Parameters of the mycomembrane and nucleoid structure of multidrug-resistant M. tuberculosis morphovars. *Novosti mediko-biologicheskikh nauk* [News of Medical and Biological Sciences]. 2024, vol. 24, no. 3, pp. 171–181 (in Russian).

6. Abrahams K. A., Besra G. S. Synthesis and recycling of the mycobacterial cell envelope. *Current Opinion in Microbiology*, 2021, vol. 60, pp. 58–65. https://doi.org/10.1016/j.mib.2021.01.012

7. World Health Organization. *Consolidated guidance on tuberculosis data generation and use: module 1: tuberculosis surveillance.* Avaliable at: https://www.who.int/publications/i/item/9789240075290 (accessed 10.06.2025).

8. Alderwick L. J., Harrison J., Lloyd G. S., Birch H. L. The Mycobacterial Cell Wall—Peptidoglycan and Arabinogalactan. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2015, vol. 5, no. 8, art. a021113. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021113

9. Meyer F. M., Bramkamp M. Cell wall synthesizing complexes in Mycobacteriales. *Current Opinion in Microbiology*, 2024, vol. 79, art. 102478. https://doi.org/10.1016/j.mib.2024.102478

Информация об авторах

Яцкевич Наталья Викторовна – канд. мед. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии (Долгиновский тракт, 157, 220080, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: yahoravanatallia@mail.ru. https://orcid.org/0000-0001-8691-1849

Асташонок Андрей Николаевич – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: micro.87@mail.ru

Иванова Анастасия Леонидовна – мл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии (Долгиновский тракт, 157, 220080, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: strinovich96@gmail.com

Скрягина Елена Михайловна – д-р мед. наук, профессор, заместитель директора. Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии (Долгиновский тракт, 157, 220080, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: alena.skrahina@gmail.com. https://orcid.org/0000-0002-1460-0272

Полещук Николай Николаевич – д-р мед. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: pnn@belriem.by

Information about the authors

Natalia V. Yatskevich – Ph. D. (Med.), Associate Professor, Leading Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Pulmonology and Phthisiology, Minsk, Republic of Belarus (157, Dolginovsky Tract, 220080, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: yahoravanatallia@mail.ru. https://orcid.org/0000-0001-8691-1849

Andrey N. Astashonok – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health (23, Filimonova Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: micro.87@mail.ru

Anastasia L. Ivanova – Junior Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Pulmonology and Phthisiology (157, Dolginovsky Tract, 220080, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: strinovich96@gmail.com

Elena M. Skryagina – D. Sc. (Med.), Deputy Director. Republican Scientific and Practical Center for Pulmonology and Phthisiology, Minsk, Republic of Belarus (157, Dolginovsky Tract, 220080, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: alena.skrahina@gmail.com. https://orcid.org/0000-0002-1460-0272

Nikalay N. Poleshchuk – D. Sc. (Med.), Professor, Chief Researcher. Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health (23, Filimonova Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: pnn@belriem.by

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 616.441-006.6
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-1-39-48

Поступила в редакцию 21.07.2025
Received 21.07.2025

А. П. Шепелькевич[1], Ю. В. Дыдышко[1], Е. В. Юреня[2]

[1]Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
[2]Минский городской клинический эндокринологический центр, Минск, Республика Беларусь

ДИАГНОСТИКА ФЕОХРОМОЦИТОМЫ, ПЕРВИЧНОГО ГИПЕРПАРАТИРЕОЗА И МЕДУЛЛЯРНОГО РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КАК КОМПОНЕНТОВ СИНДРОМА МНОЖЕСТВЕННОЙ ЭНДОКРИННОЙ НЕОПЛАЗИИ 2А ТИПА

Аннотация. Цель исследования – разработка и внедрение в клиническую практику эффективного алгоритма диагностики наследственного медуллярного рака щитовидной железы (МРЩЖ) и его ассоциаций в рамках синдрома множественной эндокринной неоплазии 2А типа (МЭН 2А).

Проведен ретроспективный анализ данных 658 пациентов с МРЩЖ из Белорусского канцер-регистра с детализацией клинико-лабораторных и инструментальных параметров. Сформирована и проанализирована база данных 23 пациентов с установленным клиническим диагнозом МЭН 2А. На основе сравнительного анализа популяционных и клинических данных разработан диагностический алгоритм для выявления феохромоцитомы, первичного гиперпаратиреоза и МРЩЖ как компонентов МЭН 2А. Ключевым элементом алгоритма является метод молекулярно-генетического исследования патогенных мутаций в протоонкогене RET. Метод оформлен в виде инструкции по применению и предназначен для диагностики наследственных форм патологии у пробандов и их родственников первой степени родства. Метод внедрен в комплекс медицинских услуг и позволяет оптимизировать раннюю диагностику синдрома МЭН 2А в клинической практике.

Ключевые слова: феохромоцитома, первичный гиперпаратиреоз, медуллярный рак щитовидной железы, синдром множественной эндокринной неоплазии 2А типа, кальцитонин, протоонкоген RET

Для цитирования: Шепелькевич, А. П. Диагностика феохромоцитомы, первичного гиперпаратиреоза и медуллярного рака щитовидной железы как компонентов синдрома множественной эндокринной неоплазии 2А типа / А. П. Шепелькевич, Ю. В. Дыдышко, Е. В. Юреня // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2026. – Т. 23, № 1. – С. 39–48. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-1-39-48

Alla P. Shepelkevich[1], Yulia V. Dydyshko[1], Elena V. Yurenya[2]

[1]Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
[2]Minsk City Clinical Endocrinology Center, Minsk, Republic of Belarus

DIAGNOSTICS OF PHEOCHROMOCYTOMA, PRIMARY HYPERPARATHYROIDISM, AND MEDULLARY THYROID CANCER AS COMPONENTS OF MULTIPLE ENDOCRINE NEOPLASIA SYNDROME TYPE 2A

Abstract. The article presents the results of a population study conducted by the Oncoendocrinology research group based on the research unit of the Belarusian State Medical University on the task of "Developing and implementing a method for diagnosing medullary thyroid cancer and multiple endocrine neoplasia syndrome type 2A". Initially, data from 658 patients with medullary thyroid cancer (MTC) from the Belarusian Cancer Registry (BCR) were analyzed, a database of patients with MTC with a detailed description and analysis of clinical, laboratory, and instrumental parameters was formed. A database of patients with a clinical diagnosis of multiple endocrine neoplasia syndrome type 2A (MEN 2A) was also created, including 23 people. An algorithm for diagnosing pheochromocytoma (PHC), primary hyperparathyroidism (PHPT) and MTC as components of MEN 2A has been developed, and instructions for use have been approved for the "Method for Determining Pathogenic Mutations of the RET Proto-Oncogene for Diagnosing Hereditary Medullary Thyroid Cancer, Pheochromocytoma, and Primary Hyperparathyroidism" (Reg. No. 017-0424 dated 13.12.2024), which sets out a method for diagnosing the hereditary form of MTC and MEN 2A syndrome in first-degree relatives of patients with MTC and the presence of pathogenic RET mutations. The method can be used in a complex of medical services aimed at diagnosing the familial form of medullary cancer and MEN 2A syndrome.

Keywords: pheochromocytoma, primary hyperparathyroidism, medullary thyroid cancer, multiple endocrine neoplasia syndrome type 2A, calcitonin, RET Proto-Oncogene

For citation: Shepelkevich A. P., Dydyshko Yu. V., Yurenya E. V. Diagnostics of pheochromocytoma, primary hyperparathyroidism, and medullary thyroid cancer as components of multiple endocrine neoplasia syndrome type 2A. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2026, vol. 23, no. 1, pp. 39–48 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-1-39-48

© Шепелькевич А. П., Дыдышко Ю. В., Юреня Е. В., 2026

Введение. Синдром множественной эндокринной неоплазии (МЭН) – генетически детерминированная патология с аутосомно-доминантным типом наследования, проявляющаяся доброкачественными или злокачественными опухолями двух и более эндокринных желез [1]. В ходе клинико-эпидемиологических исследований установлено, что для синдрома МЭН 2 типа характерно наличие медуллярного рака щитовидной железы (МРЩЖ) как постоянного признака, сочетание которого с феохромоцитомой (ФХЦ) и аденомой паращитовидной железы относят к синдрому МЭН 2А (синдром Сиппла), а при сочетании ФХЦ с множественными ганглионейромами слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта – к синдрому МЭН 2Б [2, 3]. Ранее выделялась изолированная семейная форма МРЩЖ (сейчас – вариант МЭН 2А), отличающаяся изолированным поражением щитовидной железы (ЩЖ) (как правило, в нескольких поколениях без других проявлений классического синдрома МЭН 2А) [3, 4]. Однако описаны случаи поздней манифестации ФХЦ у одного из пробандов в семьях с семейным изолированным МРЩЖ [5]. В связи с этим в 2024 г. в Клинических рекомендациях по МРЩЖ Российской ассоциации онкологов было предложено считать семейную форму МРЩЖ вариантом синдрома МЭН 2А с низкой пенетрантностью ФХЦ [5]. МРЩЖ при этой форме, как правило, развивается позже, протекает менее агрессивно, фенотипическая пенетрантность МРЩЖ при семейной изолированной форме может быть не абсолютной (часть пациентов с мутацией не имеют МРЩЖ) [5].

Наиболее распространенным из наследственных вариантов является синдром МЭН 2А (90–95 % пациентов с МЭН 2), тогда как синдром МЭН 2Б составляет 5–10 % всех случаев [6]. МРЩЖ как первичное проявление данного синдрома развивается в возрасте от 5 до 25 лет, фенотипическая пенетрантность МРЩЖ при МЭН 2А составляет 100 % [6, 7]. Одно- либо двусторонняя ФХЦ и первичный гиперпаратиреоз (ПГПТ) развиваются в 55–75 и 15–30 % случаев соответственно [6, 7].

Согласно эпидемиологическим данным, распространенность МЭН-синдромов варьирует 1 случай на 600–1 200 тыс. населения, 90 % которых составляет синдром МЭН 2А [6]. В то же время распространенность ФХЦ составляет 0,1–2 случая на 100 тыс. населения, распространенность ПГПТ – 0,5–34 случая на 1 000 населения [1].

Медико-социальная значимость синдрома МЭН 2А обусловлена тяжестью проявлений компонентов заболевания, таких как прогрессирование опухолевого процесса, высокий риск сосудистых катастроф, патологические переломы шейки бедра/позвоночника, желудочно-кишечные кровотечения, хроническая почечная недостаточность. Отсутствие специфических симптомов и длительное скрытое развитие компонентов синдрома обусловливают позднюю диагностику, что ассоциировано с высокой смертностью по причине МРЩЖ и ФХЦ [3, 4, 6].

С учетом отсутствия данных о распространенности компонентов синдрома МЭН 2А и единых подходов по их выявлению в Республике Беларусь был реализован популяционный проект «Разработать и внедрить метод диагностики медуллярного рака щитовидной железы и синдрома множественной эндокринной неоплазии 2А типа».

Материалы и методы исследования. В рамках государственной научно-технической программы «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг», подпрограммы «Злокачественные опухоли» на период 2019–2023 гг. выполнено задание 03.12 «Разработать и внедрить метод диагностики медуллярного рака щитовидной железы и синдрома множественной эндокринной неоплазии 2А типа».

Цель исследования – разработать и внедрить метод диагностики МРЩЖ и синдрома МЭН 2А.

Задачи исследования:

создать базу данных пациентов, прооперированных по поводу МРЩЖ в Республике Беларусь. Определить спектр и частоту патогенных мутаций в протоонкогене RET у пациентов с МРЩЖ, выделить спорадические и семейные формы заболевания;

в зависимости от выявленных мутаций определить степень агрессивности клинического течения МРЩЖ. Провести параллели и оценить своевременное выявление прогрессирования заболевания при определении базального и стимулированного уровня кальцитонина;

разработать протокол обследования пациентов с МРЩЖ и наличием мутаций в протоонкогене RET с целью своевременного выявления ФХЦ и ПГПТ;

оценить наследственные риски развития МРЩЖ у родственников первой степени родства пациентов – носителей патогенных мутации в протоонкогене RET;

изучить распространенность, выявляемость и выживаемость пациентов с синдромом МЭН 2А у жителей Республики Беларусь.

В условиях научно-исследовательской части Белорусского государственного медицинского университета (БГМУ) была создана междисциплинарная научная группа «Онкоэндокринология», в которую вошли сотрудники кафедры эндокринологии БГМУ, Минского городского клинического онкологического центра (МГКОЦ), Республиканской молекулярно-генетической лаборатории канцерогенеза ГУ «РНПЦ ОМР им. Н. Н. Александрова», имеющие большой опыт в проведении молекулярно-генетических исследований, а также клинической, лабораторной и инструментальной диагностики МРЩЖ, ПГПТ, ФХЦ. Общее руководство работой осуществлялось профессором кафедры эндокринологии БГМУ, д-ром мед. наук А. П. Шепелькевич и заведующим республиканской молекулярно-генетической лабораторией канцерогенеза, д-ром мед. наук А. С. Портянко.

Дизайн исследования включал четыре этапа:

I этап. Была создана база данных пациентов с установленным диагнозом МРЩЖ исходя из данных БКК и медицинской документации Республиканского центра опухолей ЩЖ. Были проанализированы все истории болезней пациентов, соответствующие критериям включения, в том числе архивные, и амбулаторные карты.

II этап. У всех пациентов был получен биологический материал (венозная кровь) для проведения генетического тестирования по оценке мутационного статуса протоонкогена RET с целью диагностики семейных форм МРЩЖ и изучения распределения уровней агрессивности клинического течения заболевания.

III этап. Проведены клиническое, лабораторное и инструментальное исследования пациентов с наличием мутаций.

IV этап. Выполнена оценка наследственных рисков развития МРЩЖ у родственников первой степени родства пациентов – носителей патогенных мутации в протоонкогене RET, получен биологический материал (венозная кровь) для проведения генетического тестирования.

Инструментально-лабораторные методы исследования. Ультразвуковое исследование области шеи и регионарных лимфоузлов проведено с использованием аппарата УЗИ ALOKA ALPHA 7 ProSound. Компьютерная томография органов грудной клетки и брюшной полости выполнена на 64-спиральном компьютерном томографе GE OPTIMA CT660. КТ-аппараты интегрированы с системой PACS (электронный архив изображений), что позволяет сразу передать результаты исследований врачам-клиницистам. Сцинтиграфия паращитовидных желез (ПЩЖ) выполнена в отделении радиоизотопной диагностики МГКОЦ. При необходимости проведена двухэтапная радиоизотопная сцинтиграфия ПЩЖ с Tc99m-пертехнетатом и с Tc99m-MIBI.

Определение лабораторных и биохимических маркеров включало исследование параметров фосфорно-кальциевого обмена: сывороточных уровней кальция общего, кальция ионизированного, фосфора, паратгормона и кальцидиола. Исследование электролитов выполнено на автоматическом биохимическом анализаторе AU-480, Beckman Coulter; паратгормона и кальцидиола – на автоматическом иммунохимическом анализаторе Access 2. Гормональное исследование включало определение в сыворотке тиреотропного гормона, свободного тироксина и кальцитонина и было проведено на автоматическом иммунохимическом анализаторе Access 2.

Специфичным для ФХЦ является исследование метанефрина и норметанефрина плазмы крови. В рамках проекта была отработана методика данных диагностических тестов на базе Минского городского клинического эндокринологического центра и проведено внедрение в рутинную клиническую практику.

Обработка полученных данных проводилась с использованием статистических пакетов Excel, Statistica 10.0. Гипотезу о нормальности распределения признаков, характеризующихся количественными значениям, считали подтвержденной, если в интервал $M \pm 2\sigma$ попадало не менее 95,5 % всех значений признаков. При нормальном распределении признака использовали методы параметрической статистики. Оценку достоверности разности сравниваемых величин проводи-

ли на основании величины *t*-критерия Стъюдента. Для обработки данных использовали методы непараметрической статистики – *U*-критерий Манна – Уитни. Результаты исследования считали достоверными, различия между показателями – значимыми при вероятности безошибочного прогноза не менее 95 % ($p < 0,05$).

Результаты и их обсуждение. В Республике Беларусь до начала реализации проекта не было данных о распространенности синдрома МЭН 2А, что было обусловлено как сложностями комплексной (клинической и молекулярно-генетической) диагностики, так и отсутствием алгоритма диагностики.

В рамках проекта было проведено ретроспективное продольное исследование всех заболевших (658 пациентов) МРЩЖ в Беларуси с 1980 по 2019 г., в том числе проанализированы данные 394 пациентов, заболевших МРЩЖ с 2019 по 2024 г. По результатам исследования была создана и зарегистрирована «База данных пациентов с медуллярным раком щитовидной железы» (№ 1761920314 от 21.11.2019).

Фиксируемые средние пятилетние уровни заболеваемости МРЩЖ в Республике Беларусь в период с 1980 по 2019 г. увеличились в 8 раз (0,03 и 0,24 случая на 100 тыс. населения) и в последние годы сопоставимы с показателями заболеваемости в других европейских странах. Имеется возрастная, половая и территориальная (город/село) вариабельность в распространенности МРЩЖ. Показатель смертности на протяжении последних 25 лет сохраняет стабильность, варьируя от 0,03 до 0,04 случая на 100 тыс. населения.

Специфическая мутация гена RET определяет фенотипические проявления синдрома МЭН 2А. Данные о мутации и ассоциированном с ней фенотипе лежат в основе всех актуальных рекомендаций по ведению пациентов с МЭН 2А [3, 5, 8, 9]. Так, одной из самых важных для клинической практики характеристик фенотипа является агрессивность МРЩЖ, что в первую очередь характеризуется возрастом начала заболевания и частотой установления метастатических форм. Обновленные рекомендации Американской тиреоидологической ассоциации (American Thyroid Association, ATA) от 2015 г. для стратификации групп риска МРЩЖ предписывают использовать категории «высочайший», «высокий» и «умеренный» [5, 8, 9]:

высочайший риск – 918-й кодон;

высокий риск – 883-й и 634-й кодоны;

умеренный риск – все остальные точки мутации.

По результатам данного исследования генетически детерминированный МРЩЖ в Республике Беларусь выявлен в 15,1 % наблюдений, также была определена частота выявления мутаций в белорусской популяции в соответствии с группами риска (рис. 1) [10, 11].

Определены степени агрессивности клинического течения МРЩЖ в зависимости от выявленных мутаций с представлением гистограммы распределения групп риска у жителей Республики Беларусь. В 6,67 % случаев обнаружены мутации наиболее высокого риска, в 35,00 % – высокого риска, 58,33 % пациентов отнесены к умеренному уровню риска.



Рис. 1. Структура групп риска наследственного МРЖЩ в зависимости от наличия патогенных мутаций

Fig. 1. Structure of risk groups for hereditary MTC depending on the presence of pathogenic mutations

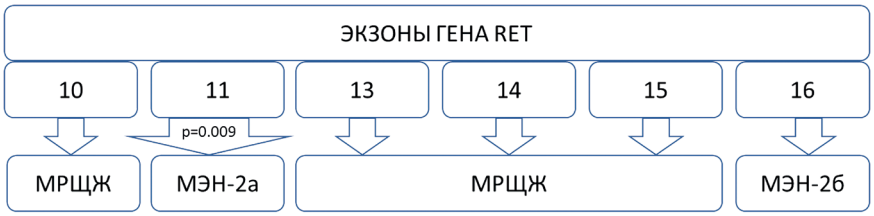


Рис. 2. Модель взаимосвязи генотипических и фенотипических характеристик

Fig. 2. Model of the relationship between genotypic and phenotypic characteristics

Установление генетических параметров является важным, поскольку пациенту с наличием RET-мутации показано наблюдение для раннего выявления ФХЦ и ПГПТ. Также установлено, что у родственников пациента с обнаруженной RET-мутацией выше риск развития МРЩЖ [3, 9, 11].

Определена также модель взаимосвязи генотипических и фенотипических характеристик. Выявлена корреляционная связь между наличием ФХЦ и мутаций в 11-м экзоне протоонкогена RET (p = 0,009). Пенетрантность ФХЦ в группе пациентов с наличием патогенных вариантов в 634-м кодоне 11-го экзона и патогенного варианта M918T в 16-м экзоне протоонкогена RET составила 50,0 % (рис. 2).

При выявлении мутации RET обсуждается вопрос о проведении профилактической тиреоидэктомии (ПТЭ) и интраоперационной ревизии ПЩЖ [3, 5, 7, 9]. Согласно российским клиническим рекомендациям по МРЩЖ 2024 г. [5] и белорусским клиническим протоколам по онкологии 2018 г. [9] под ПТЭ понимают тиреоидэктомию у пациентов с отсутствием клинических проявлений МРЩЖ с доказанной RET-мутацией, без узловых образований ЩЖ более 5 мм и (или) измененных лимфатических узлов по данным УЗИ.

Для доклинической диагностики МРЩЖ существуют стимуляционные тесты. Проба на стимуляцию уровня кальцитонина глюконатом кальция в Республике Беларусь впервые была проведена в 2017 г. в условиях онкологического консультативно-диагностического отделения тиреоидной патологии МГКОЦ (Республиканский центр опухолей щитовидной железы) [12].

В рамках проекта по заданию 03.12 проба выполнялась для:

своевременной диагностики рецидива заболевания у пациентов с МРЩЖ (выявление раннего биохимического рецидива);

уточнения показаний к ПТЭ у родственников пациентов с МРЩЖ при наличии мутации в протоонкогене RET;

дифференциальной диагностики узловой патологии ЩЖ (первичная диагностика МРЩЖ у пациентов с узловой патологией неопределенного потенциала злокачественности и при повышенных уровнях кальцитонина).

Проба проводилась согласно следующему протоколу:

определение уровня базального кальцитонина в сыворотке крови – забор крови до введения глюконата кальция;

определение стимулированного уровня кальцитонина в сыворотке крови – забор крови через 2 и 5 мин после внутривенного введения 10%-го раствора глюконата кальция.

Важно соблюдение порядка выполнения пробы определения стимулированного уровня кальцитонина. В связи с возможными побочными эффектами тест выполняется в стационарных условиях, в положении больного лежа, строго натощак. После забора крови из вены с целью определения уровня базального кальцитонина внутривенно болюсно вводят глюконат кальция из расчета 2,5 мг (0,27 мл 10%-го раствора) на 1 кг массы тела. При массе тела пациента более 70 кг вводят 20 мл 10%-го раствора глюконата кальция. Стимулированный уровень кальцитонина определяется через 2 и 5 мин после введения раствора.

Учитывая увеличение уровня кальцитонина в результате стимуляционной пробы, проведено выделение следующих критериев, определяющих тактику ведения пациентов [12]:

увеличение уровня стимулированного кальцитонина менее чем в 10 раз свидетельствует о низкой вероятности рецидива МРЩЖ;

увеличение уровня стимулированного кальцитонина в 10 и более раз свидетельствует о возможном рецидиве.

В рамках настоящего исследования было проведено более 50 проб, осуществлена оптимизация протокола проведения пробы и продолжено ее клиническое внедрение.

С учетом выполненного генетического тестирования и анализа лабораторно-инструментальных данных у 20 носителей (10 пациентов детского возраста и 10 взрослых) герминальных мутаций в протоонкогене RET была проведена ПТЭ. В 50 % случаев выявлен МРЩЖ и в 50 % – С-клеточная гиперплазия, являющаяся доказанным предиктором развития заболевания. Диагностическая эффективность метода составила 100 %.

На генетическое исследование было направлено 112 родственников пациентов с МРЩЖ, исследование выполнено у 90 человек, что составляет 80 % от числа назначений молекулярно-генетического исследования. Во время предоперационного обследования признаков опухолевой патологии ЩЖ не было обнаружено. Выявляемость случаев наследственного МРЩЖ составила 80 %.

Подгруппа пациентов с синдромом МЭН 2А. Для создания базы данных пациентов с МЭН 2А были проанализированы данные базы пациентов с МРЩЖ, сформированной на основании Белорусского канцер-регистра. В группу МЭН 2А включены пациенты с МРЩЖ и наличием еще одной эндокринной опухоли – всего 23 человека. Информационный ресурс «База данных пациентов с синдромом множественной эндокринной неоплазии 2А типа» зарегистрирован в Государственном регистре информационных ресурсов (№ 1762023846 от 17.11.2020). Количество пациентов, внесенных в базу данных МЭН 2А на 01.06.2024, составляет 23 человека, возраст – от 17 до 56 лет.

ФХЦ выявлена в 69,6 % случаев (16 пациентов), ПГПТ – в 17,4 % случаев (4 пациента), сочетание трех нейроэндокринных опухолей имело место в 13,0 % случаев (3 пациента).

В подгруппе пациентов с синдромом МЭН 2А также были определены генетические варианты агрессивности клинического течения МРЩЖ в зависимости от выявленных мутаций: в 8,2 % случаев выявлены мутации наиболее высокого риска, в 36,3 % – высокого риска, 55,5 % пациентов отнесены к умеренному уровню риска [11].

Проведено лабораторное исследование биохимических параметров крови пациентов с МЭН 2А, данные которого представлены в табл. 1.

Таблица 1. **Лабораторные показатели пациентов с МЭН 2А (*n* = 23)**

Table 1. **Laboratory parameters of patients with MEN 2A (*n* = 23)**

Параметр	Значение, Me (LQ–UQ)
ТТГ, мМЕд/л	1,87 (1,34–4,12)
Т4 св, пмоль/л	16,27 (12,33–19,33)
Кальцитонин, пг/мл	302,44 (141,60–1276,34)
Паратгормон, пг/мл	27,5 (2,43–223,98)
Кальций общий, ммоль/л	2,20 (2,07–2,45)
Кальций ионизированный, ммоль/л	1,11 (1,12 –1,56)
Фосфор, ммоль/л	1,31 (0,71–1,33)
Натрий, ммоль/л	141,7 (134,5–145,5)
Калий, ммоль/л	4,44 (3,99–4,78)
Глюкоза, ммоль/л	5,53 (4,76–6,55)

В исследовании также был проведен анализ частоты встречаемости клинических компонентов МЭН 2А в зависимости от данных генетического тестирования протоонкогена RET у пациентов с верифицированным диагнозом МРЩЖ. Распределение пациентов с учетом наличия диагностированной ФХЦ в группах риска мутаций RET-гена представлено на рис. 3.

Средний возраст пациентов с ФХЦ составил 31,9 года. Среди пациентов с мутациями в других кодонах протоонкогена RET ФХЦ была обнаружена у 2,7 % пациентов с вариантом M918T. Пенетрантность ФХЦ у пациентов с данным патогенным вариантом также составила 50,0 %, что соответствует результатам аналогичных исследований.

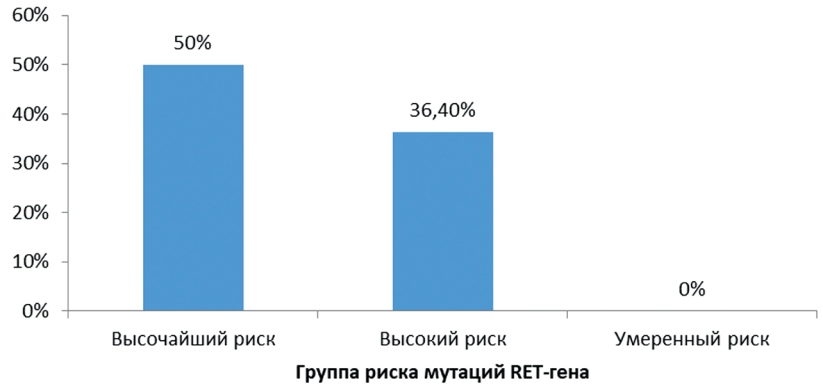


Рис. 3. Доля пациентов с установленным диагнозом ФХЦ в группах мутаций протоонкогена RET

Fig. 3. Proportion of patients with an established diagnosis of pheochromocytoma in RET proto-oncogene mutation groups

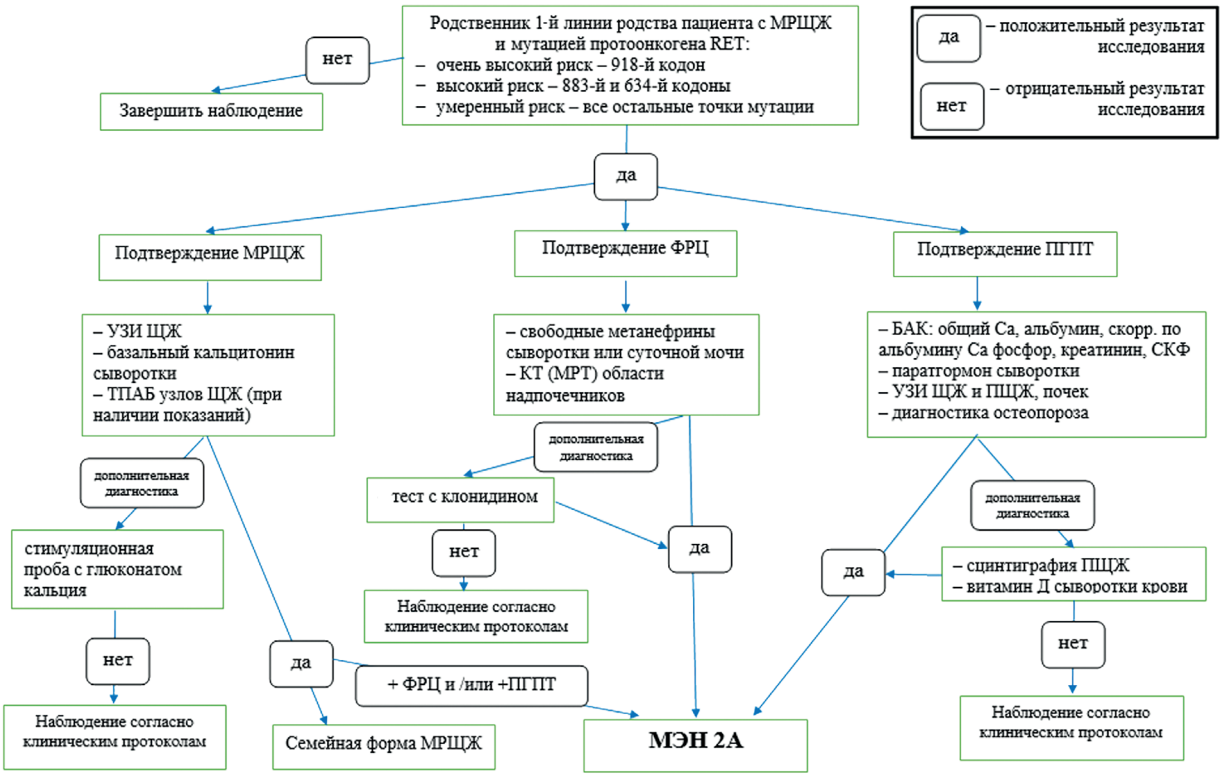


Рис. 4. Диагностика компонентов синдрома МЭН 2А у родственников первой линии родства пациентов с МРЩЖ

Fig. 4. Diagnosis of MEN 2A syndrome components in first-degree relatives of patients with MTC

На основании комплексного клинического, инструментального и молекулярно-генетического исследования разработан алгоритм профилактики МРЩЖ у родственников первой степени родства пациентов с мутациями в протоонкогене RET (рис. 4).

Разработана и утверждена инструкция по применению «Метод определения патогенных мутаций протоонкогена RET для диагностики наследственного медуллярного рака щитовидной железы, феохромоцитомы и первичного гиперпаратиреоза» (рег. № 017-0424 от 13.12.2024), в которой изложен метод диагностики наследственной формы МРЩЖ и синдрома МЭН 2А у родственников первой степени родства пациентов с МРЩЖ и наличием патогенных RET-мутаций, включающий следующие этапы:

I этап. Проведение молекулярно-генетического исследования в соответствии с инструкцией по применению «Метод определения мутаций в протоонкогене RET с применением методик

ПЦР и секвенирования» (рег. № 044-0523 от 27.10.2023) у родственников первой линии родства пациентов с МРЩЖ и наличием патогенных RET-мутаций.

II этап. Стратификация риска развития МРЩЖ при выявлении мутаций в протоонкогене RET: очень высокий риск – 918-й кодон; высокий риск – 883-й и 634-й кодоны; умеренный риск – все остальные точки мутации.

Наличие патогенной мутации протоонкогена RET определяет риск развития ФХЦ и ПГПТ. При отсутствии в протоонкогене RET мутации исследование считается завершенным.

При наличии очень высокого риска (918-й кодон) пациент направляется на хирургическое лечение в возрасте до 2 лет или после выявления мутации. При наличии высокого риска (883-й и 634-й кодоны) пациент направляется на хирургическое лечение в возрасте до 5 лет или после выявления мутации.

При наличии мутации умеренного риска развития заболевания необходимо провести дополнительные исследования: УЗИ ЩЖ, определение уровня кальцитонина в сыворотке крови.

При отсутствии изменений в ЩЖ по данным УЗИ и уровне кальцитонина в пределах нормы носитель RET-мутации приглашается на контрольное исследование через 6 месяцев в Республиканский центр опухолей щитовидной железы при МГКОЦ. При выявлении узлового образования по данным УЗИ и (или) уровне кальцитонина выше нормы пациент направляется на диагностику МРЩЖ.

III этап. Выполнение исследования свободных метанефринов плазмы крови и визуализация надпочечников (методом выбора является компьютерная томография с ангиографией) для предотвращения развития ФХЦ. Если уровень свободных метанефринов плазмы в пределах нормы и не визуализируется патология надпочечников, носитель RET-мутации приглашается на контрольное исследование через 1 год.

Если уровень свободных метанефринов плазмы повышен не более чем в 3 раза и не визуализируется патология надпочечников, носитель RET-мутации приглашается на контрольное исследование через 6 месяцев. Если уровень свободных метанефринов плазмы повышен более чем в 3 раза и (или) визуализируется патология надпочечников, пациент направляется на диагностику ФХЦ.

IV этап. Осуществление мероприятий по профилактике развития ПГПТ согласно клиническому протоколу «Диагностика и лечение пациентов с заболеваниями паращитовидных желез (взрослое население)» (утвержден постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 21.06.2021 № 85) и клиническому протоколу «Диагностика и лечение пациентов с эндокринологическими заболеваниями (детское население)» (утвержден постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 23.08.2019 № 90).

Выводы

1. В результате проведенного популяционного исследования генетически детерминированный МРЩЖ в Республике Беларусь выявлен в 15,1 % наблюдений и ассоциировался с мутациями, относящимися в 6,67 % случаев к наиболее высокой (918-й кодон), в 35,00 % – к высокой (883-й и 634-й кодоны) и в 58,33 % – к умеренной (все остальные кодоны) группам риска агрессивности заболевания.

2. Проведена оптимизация протокола пробы определения уровня стимулированного глюконатом кальция кальцитонина и продолжено ее клиническое внедрение.

3. Синдром МЭН 2А среди пациентов с МРЩЖ выявлен у 38,3 % (мужчины – 43,5 %; женщины – 56,5 %). В структуре синдрома МЭН 2А феохромоцитома выявлена в 69,6 % случаев (16 пациентов), ПГПТ – в 17,4 % случаев (4 пациента), сочетание трех нейроэндокринных опухолей имело место в 13,0 % случаев (3 пациента).

4. В подгруппе пациентов с синдромом МЭН 2А были определены генетические варианты агрессивности клинического течения МРЩЖ в зависимости от выявленных мутаций: в 8,2 % случаев выявлены мутации наиболее высокого риска, в 36,3 % – высокого риска, 55,5 % пациентов отнесены к умеренному уровню риска.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Работа выполнена в рамках ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг», подпрограммы «Злокачественные опухоли» на период 2019–2023 гг. по заданию 03.12 «Разработать и внедрить метод диагностики медуллярного рака щитовидной железы и синдрома множественной эндокринной неоплазии 2А типа».

Acknowledgements. The work was carried out within the framework of the state scientific and technical program "Scientific and technical support for the quality and availability of medical services", subprogram "Malignant tumors" for the period 2019–2023 under task 03.12 "Develop and implement a method for diagnosing medullary thyroid cancer and multiple endocrine neoplasia syndrome type 2A".

Список использованных источников

1. Thyroid Carcinoma, Version 2.2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology / R. I. Haddad, L. Bischoff, D. Ball [et al.] // Journal of the National Comprehensive Cancer Network: JNCCN. – 2022. – Vol. 20, N 8. – P. 925–951. https://doi.org/10.6004/jnccn.2022.0040

2. Clinical utility gene card for: multiple endocrine neoplasia type 2 / F. Raue, S. Rondot, E. Schulze [et al.] // European Journal of Human Genetics. – 2012. – Vol. 20, N 3. – Art. 142. https://doi.org/10.1038/ejhg.2011.142

3. 5P Strategies for Management of Multiple Endocrine Neoplasia Type 2: A Paradigm of Precision Medicine / S.-Y. Li, Y.-Q. Ding, Y.-L. Si [et al.] // Frontiers in Endocrinology. – 2022. – Vol. 11. – Art. 543246. https://doi.org/10.3389/fendo.2020.543246

4. Nelkin, B. Recent advances in the biology and therapy of medullary thyroid carcinoma / B. Nelkin // F1000Research. – 2017. – N 6. – Art. 2184. https://doi.org/10.12688/f1000research.12645.1

5. Клинические рекомендации «Медуллярный рак щитовидной железы» / Ассоц. онкологов России, Общерос. обществ. орг. «Федерация специалистов по лечению заболеваний головы и шеи», Общерос. обществ. орг. «Рос. о-во клин. онкологии» [и др.]. – 2024. – 50 с. – URL: https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2024/11/medullyarnyj_rak_shchitovidnoj_zhelezy.pdf (дата обращения: 02.12.2025).

6. Синдром множественной эндокринной неоплазии 2 типа: эпидемиологические аспекты и подходы к диагностике / А. П. Шепелькевич, Т. А. Леонова, В. В. Кондратович [и др.] // Лечебное дело. – 2019. – № 4. – С. 78–84.

7. Междисциплинарные аспекты ведения пациентов с медуллярным раком щитовидной железы в рамках синдрома МЭН 2А типа / А. П. Шепелькевич, В. А. Кондратович, Т. А. Леонова [и др.] // Рецепт. – 2021. – Т. 24, № 2, ч. 2. – С. 7–25.

8. Revised American Thyroid Association Guidelines for the Management of Medullary Thyroid Carcinoma / S. A. Wells, S. L. Asa, H. Dralle [et al.] // Thyroid. – 2015. – Vol. 25, N 6. – P. 567–610. https://doi.org/10.1089/thy.2014.0335

9. Об утверждении клинического протокола «Алгоритмы диагностики и лечения злокачественных новообразований»: постановление М-ва здравоохранения Респ. Беларусь от 6 июля 2018 г. № 60 // Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь. – URL: https://pravo.by/document/?guid=12551&p0=W21833500p (дата обращения: 03.12.2025).

10. Популяционные особенности мутационного спектра гена RET у пациентов с медуллярным раком щитовидной железы в Республике Беларусь / С. Ю. Смирнов, А. В. Шлома, Т. А. Чехович [и др.] // Онкологический журнал. – 2021. – Т. 15, № 3, прил.: Современные тенденции в лечении опухолей кожи и мягких тканей: материалы Респ. науч.-практ. конф., Минск, 24 дек. 2021 г. – С. 56.

11. Опыт диагностики наследственных опухолевых синдромов в Республике Беларусь / Е. И. Субоч, С. Ю. Смирнов, А. В. Медведь [и др.] // Евразийский онкологический журнал. – 2022. – Т. 10, № 2, прил. (online): Тезисы XIII Съезда онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии, 27–29 апр. 2022 г., Казахстан. – С. 803. – URL: https://recipe.by/wp-content/uploads/woocommerce_uploads/2022/05/YEL_OnkoTezisy_2022-2-tom-10.pdf (дата обращения: 03.12.2025).

12. Проба определения стимулированного уровня кальцитонина / Т. А. Леонова, В. А. Кондратович, И. И. Евтух [и др.] // Рецепт. – 2023. – Т. 26, № 5. – С. 675–684.

References

1. Haddad R. I., Bischoff L., Ball D., Bernet V., Blomain E., Busaidy N. L. [et al.]. Thyroid Carcinoma, Version 2.2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network: JNCCN*, 2022, vol. 20, no. 8, pp. 925–951. https://doi.org/10.6004/jnccn.2022.0040

2. Raue F., Rondot S., Schulze E., Szpak-Ulczok S., Jarzab B., Frank-Raue K. Clinical utility gene card for: multiple endocrine neoplasia type 2. *European Journal of Human Genetics*, 2012, vol. 20, no. 3, art. 142. https://doi.org/10.1038/ejhg.2011.142

3. Li S.-Y., Ding Y.-Q., Si Y.-L., Ye M.-J., Xu C.-M., Qi X.-P. 5P Strategies for Management of Multiple Endocrine Neoplasia Type 2: A Paradigm of Precision Medicine. *Frontiers in Endocrinology*, 2022, vol. 11, art. 543246. https://doi.org/10.3389/fendo.2020.543246

4. Nelkin, B. Recent advances in the biology and therapy of medullary thyroid carcinoma. *F1000Research*, 2017, no. 6, art. 2184. https://doi.org/10.12688/f1000research.12645.1

5. Association of Oncologists of Russia [et al.]. *Clinical guidelines «Medullary thyroid cancer»*, 2024, 50 p. Avaliable at: https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2024/11/medullyarnyj_rak_shchitovidnoj_zhelezy.pdf (accessed 02.12.2025) (in Russian).

6. Shepel'kevich A. P., Leonova T. A., Kondratovich V. V., Sosedkova A. V., Dydyshko Yu. V. Multiple endocrine neoplasia syndrome type 2: epidemiological aspects and approaches to diagnostics. *Lechebnoe delo* [General Medicine], 2019, no. 4, pp. 78–84 (in Russian).

7. Shepel'kevich A. P., Kondratovich V. A., Leonova T. A., Dydyshko Yu. V., Sosedkova A. V., Gradusha A. V., Luzan A. M. Interdisciplinary aspects of managing patients with medullary thyroid cancer in the context of MEN type 2A syndrome. *Retsept* [Recipe], 2021, vol. 24, no. 2, part 2, pp. 7–25 (in Russian).

8. Wells S. A., Asa S. L., Dralle H., Elisei R., Evans D. B., Gagel R. F. [et al.]. Revised American Thyroid Association Guidelines for the Management of Medullary Thyroid Carcinoma. *Thyroid*, 2015, vol. 25, no. 6, pp. 567–610. https://doi.org/10.1089/thy.2014.0335

9. On approval of the clinical protocol «Algorithms for the diagnosis and treatment of malignant neoplasms»: Resolution of the Ministry of Health of the Republic of Belarus dated July 6, 2018 No. 60. *National Legal Internet Portal of the Republic of Belarus*. Avaliable at: https://pravo.by/document/?guid=12551&p0=W21833500p (accessed 03.12.2025) (in Russian).

10. Smirnov S. Yu., Shloma A. V., Chekhovich T. A., Leonova T. A., Kondratovich V. A., Dydyshko Yu. V., Shepel'kevich A. P., Suboch E. I., Portyanko A. S. Population features of the mutation spectrum of the RET gene in patients with medullary thyroid cancer in the Republic Belarus. *Onkologicheskii zhurnal* [Oncology journal], 2021, vol. 15, no. 3, suppl.: Current Trends in the Treatment of Skin and Soft Tissue Tumors: Proc. of the Rep. Scientific and Practical Conf., Minsk, December 24, 2021, pp. 56 (in Russian).

11. Suboch E. I., Smirnov S. Yu., Medved' A. V., Shloma A. V., Skachkova V. O., Khodasevich V. M., Chekun O. V., Karpeichik Yu. V., Gutkovskaya E. A., Portyanko A. S. Experience in diagnosing hereditary tumor syndromes in the Republic of Belarus. *Evraziiskii onkologicheskii zhurnal = Eurasian journal of oncology*, 2022, vol. 10, no. 2, suppl. (online): Abstracts of the XIII Congress of Oncologists and Radiologists of the CIS and Eurasia, Apr. 27–29, 2022, Kazakhstan, p. 803. Avaliable at: https://recipe.by/wp-content/uploads/woocommerce_uploads/2022/05/YEL_OnkoTezisy_2022-2-tom-10.pdf (accessed 03.12.2025) (in Russian).

12. Leonova T. A., Kondratovich V. A., Evtukh I. I., Perkhova O. A., Ananich I. A., Dydyshko Yu. V., Shepel'kevich A. P. Test for Determining Stimulated Calcitonin Levels. *Retsept* [Recipe], 2023, vol. 26, no. 5, pp. 675–684 (in Russian).

Информация об авторах

Шепелькевич Алла Петровна – д-р мед. наук, профессор. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220083, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: alla.shepelkevich@mail.ru

Дыдышко Юлия Васильевна – канд. мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220083, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: yuliadydyshko@mail.ru

Юреня Елена Васильевна – главный врач. Минский городской клинический эндокринологический центр (ул. Маяковского, 31, 220006, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: yureniaalena@gmail.com

Information about the authors

Alla P. Shepelkevich – D. Sc. (Med.), Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinsky Ave., 220083, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: alla.shepelkevich@mail.ru

Yulia V. Dydyshko – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinsky Ave., 220083, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: yuliadydyshko@mail.ru

Elena V. Yurenya – Chief Medical Officer. Minsk City Clinical Endocrinology Center (31, Mayakovsky Str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: yureniaalena@gmail.com

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 611.66:[616-006:575:618]
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-1-49-56

Поступила в редакцию 10.09.2025
Received 10.09.2025

Л. Ф. Можейко[1], Т. В. Пинчук[1], Н. Г. Седляр[2]

[1]Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
[2]Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республики Беларусь

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ *IL6* (RS1800797) И *IL6R* (RS2228145) НА ТЕЧЕНИЕ ЦЕРВИКАЛЬНЫХ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫХ ПОРАЖЕНИЙ

Аннотация. Согласно результатам современных исследований цервикальный канцерогенез представляет собой многофакторный процесс, в котором, наряду с высококанцерогенными типами вируса папилломы человека (ВПЧ ВКР), существенную роль играют генетические детерминанты. Реализация онкогенного потенциала ВПЧ ВКР модулируется генетическими особенностями пациента, влияющими на ключевые этапы канцерогенеза. Результаты ряда молекулярно-генетических исследований свидетельствуют о том, что индивидуальный генетический профиль может как способствовать, так и препятствовать длительной персистенции ВПЧ ВКР и прогрессированию предраковых заболеваний шейки матки.

Цель исследования – изучить влияние однонуклеотидного полиморфизма генов *IL6* (rs1800797) и *IL6R* (rs2228145) на течение цервикальных интраэпителиальных плоскоклеточных поражений.

Работа проведена на клинической базе кафедры акушерства и гинекологии с курсом повышения квалификации и переподготовки Белорусского государственного медицинского университета в 1-й городской клинической больнице г. Минска. В исследование включены 152 женщины раннего репродуктивного возраста (18–35 лет) с гистологически подтвержденными цервикальными интраэпителиальными плоскоклеточными поражениями, ассоциированными с ВПЧ ВКР. Сформированы 2 группы: в 1-ю группу вошли 89 (58,55 %) женщин с цервикальным интраэпителиальным плоскоклеточным поражением низкой степени – LSIL (N87.0 по МКБ-10); в 2-ю – 63 (41,45 %) женщины с цервикальным интраэпителиальным плоскоклеточным поражением высокой степени – HSIL (N87.1, N87.2 по МКБ-10).

Результаты нашего исследования свидетельствуют о том, что однонуклеотидный полиморфизм rs1800797 гена *IL6* может быть ассоциирован с риском развития цервикальных интраэпителиальных плоскоклеточных поражений высокой степени злокачественности. В частности, гетерозиготный генотип *A*/*G* по rs1800797 статистически значимо преобладал у пациентов с цервикальными интраэпителиальными поражениями низкой степени (p = 0,031; OR = 0,47; 95 % CI = 0,23–0,94) в сравнении с пациентами с HSIL, что, вероятно, свидетельствует об антиканцерогенном эффекте данного генотипа.

Ключевые слова: цервикальное интраэпителиальное плоскоклеточное поражение, ВПЧ, интерлейкин 6, полиморфизм генов, прогнозирование

Для цитирования: Можейко, Л. Ф. Оценка влияния однонуклеотидных полиморфизмов генов *IL6* (rs1800797) и *IL6R* (rs2228145) на течение цервикальных интраэпителиальных плоскоклеточных поражений / Л. Ф. Можейко, Т. В. Пинчук, Н. Г. Седляр // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2026. – Т. 23, № 1. – С. 49–56. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-1-49-56

Lyudmila F. Mozheiko[1], Tatsiana V. Pinchuk[1], Nikita G. Sedlyar[2]

[1]Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
[2]Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

EVALUATION OF THE INFLUENCE OF SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS OF THE *IL6* (RS1800797) AND *IL6R* (RS2228145) GENES ON THE COURSE OF CERVICAL INTRAEPITHELIAL SQUAMOUS CELL LESIONS

Abstract. According to contemporary research, cervical carcinogenesis is a multifactorial process in which, alongside high-risk human papillomavirus (HR-HPV) types, genetic determinants play a significant role. The oncogenic potential of HR-HPV is modulated by patient-specific genetic characteristics that influence key stages of carcinogenesis. Findings from several molecular genetic studies indicate that an individual genetic profile may either facilitate or hinder the long-term persistence of HR-HPV and the progression of precancerous cervical disease.

The aim is to investigate the impact of polymorphic variants of the *IL6* (rs1800797) and *IL6R* (rs2228145) genes on the course of cervical intraepithelial squamous lesions.

The study was conducted at the clinical base of the Department of Obstetrics and Gynecology with the course of advanced training and retraining of the Belarusian State Medical University, at the First City Clinical Hospital, Minsk. A total

© Можейко Л. Ф., Пинчук Т. В., Седляр Н. Г., 2026

of 152 women of early reproductive age (18–35 years), with histologically confirmed cervical intraepithelial squamous lesions associated with HR-HPV, were included. Two groups were formed: Group 1 comprised 89 women (58.55 %) with low-grade squamous intraepithelial lesions (LSIL; ICD-10 code N87.0), and Group 2 included 63 women (41.45 %) with high-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL; ICD-10 codes N87.1, N87.2).

Our findings suggest that the single nucleotide polymorphism rs1800797 of the *IL6* gene may be associated with the risk of developing high-grade cervical intraepithelial squamous lesions. In particular, the heterozygous *A*/*G* genotype of rs1800797 was statistically more frequent among patients with LSIL compared with those with HSIL ($p = 0.031$; OR = 0.47; 95 % CI = 0.23–0.94), which likely reflects the anticarcinogenic effect of this genotype.

Keywords: cervical intraepithelial squamous lesion, HPV, interleukin 6, gene polymorphism, prognosis

For citation: Mozheiko L. F., Pinchuk T. V., Sedlyar N. G. Evaluation of the influence of single nucleotide polymorphisms of the *IL6* (rs1800797) and *IL6R* (rs2228145) genes on the course of cervical intraepithelial squamous cell lesions. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2026, vol. 23, no. 1, pp. 49–56 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-1-49-56

Введение. Предраковые заболевания и рак шейки матки (РШМ) продолжают оставаться серьезной проблемой мирового здравоохранения. В настоящее время этиологию данной группы заболеваний считают многофакторной. Помимо высококанцерогенных типов вируса папилломы человека (ВПЧ ВКР) в цервикальном канцерогенезе задействованы многие адъювантные факторы. По данным J. Luvián-Morales et al., к ключевым факторам злокачественной трансформации цервикального эпителия с умеренным уровнем доказательности следует относить генетические факторы, сопутствующие инфекции, передаваемые половым путем, дисбиоз влагалища, курение, длительный прием комбинированных гормональных контрацептивов и иммуносупрессию [1].

В литературе последних лет сообщается о существенном вкладе генетических факторов в развитие цервикального канцерогенеза. Так, в исследовании S. J. Bowden et al. отмечено, что носительство неблагоприятных генотипов по SNP rs10175462 (ген *PAX8*), rs27069 (ген *CLPTM1L*), rs9272050 (ген *HLA-DQA1*), rs55986091 (ген *HLA-DQB1*) и rs9266183 (ген *HLA-B*) значительно увеличивает риск развития предраковых заболеваний и РШМ у женщин ввиду подавления программируемой гибели клеток, опосредованной указанными генами [2]. По данным J. Yang et al., носительство аллеля *A* однонуклеотидного полиморфизма rs361525 промотора гена TNF-α ассоциировано с проканцерогенным эффектом, а носительство того же аллеля однонуклеотидного полиморфизма rs1800629 ассоциировано, наоборот, с протекторными свойствами [3].

В современной литературе приводятся убедительные доказательства тому, что интерлейкин 6 (ИЛ-6), синтезируемый активированными макрофагами, Т-клетками, а также рядом эпителиальных и соединительнотканных клеток после их активации патоген-связанными молекулами (включая вирусные белки), выступает в качестве одного из важнейших модераторов острой фазы воспаления и канцерогенеза [4–6]. Это объясняет влияние ИЛ-6 на различные клеточные процессы: модуляцию локального иммунного микроокружения; пролиферацию, апоптоз, ангиогенез, дифференцировку клеток и экспрессию генов. Причем эффекты данного интерлейкина могут быть противоположными: антиканцерогенный эффект реализуется ИЛ-6-ассоциированным синтезом противовоспалительных цитокинов, мобилизацией иммунных клеток и защитой ДНК от повреждений, тогда так проканцерогенный эффект проявляется поддержкой хронического воспаления, что в итоге приводит к истощению иммунокомпетентных клеток, формированию иммуносупрессивной микросреды и активации сигнальных путей, способствующих злокачественной трансформации клеток и неопластической прогрессии [7, 8].

В некоторых зарубежных публикациях указано, что концентрация в крови ИЛ-6 имеет прямую корреляцию со степенью тяжести цервикальных интраэпителиальных плоскоклеточных поражений и РШМ, реализуемую через неоангиогенез и локальный иммуносупрессивный эффект, что позволяет неопластическим клеткам избегать иммунного ответа [9–11]. В исследовании B. Li et al. показано, что тяжесть предракового поражения шейки матки прямо пропорциональна уровню ИЛ-6 [12]. В многофакторном статистическом метаанализе Md. Harun-Or-Roshid et al. указано, что определенные аллели и генотипы по rs1800796 гена *IL6* ассоциированы с общим повышенным риском онкологических процессов; rs1800795 – с повышенным риском рака

шейки матки, печени и простаты; rs1800796 – с риском развития рака легких, простаты и желудка; rs1800797 – с РШМ [13]. В то же время, согласно результатам метаанализа A. G. Prema et al., аллели и генотипы однонуклеотидного полиморфизма rs1800797 гена *IL6* не играют существенной роли в развитии РШМ [14].

Очевидно, полученные данные требуют дальнейших исследований для установления связи между полиморфизмами генов у пациентов с преинвазивными и инвазивными поражениями шейки матки. Изучение комбинаций генетических факторов в цервикальном канцерогенезе позволит улучшить прогнозирование клинического течения цервикальных интраэпителиальных плоскоклеточных поражений, что обеспечит индивидуализированный подход к тактике ведения и медицинского наблюдения таких пациентов.

Цель исследования — изучить влияние однонуклеотидного полиморфизма генов *IL6* (rs1800797) и *IL6R* (rs2228145) на течение цервикальных интраэпителиальных плоскоклеточных поражений.

Задачи исследования:

определить статистически значимые клинико-анамнестические характеристики исследуемых пациентов в отношении длительной персистенции ВПЧ ВКР и цервикального канцерогенеза;

провести анализ типов ВПЧ ВКР как ключевого этиологического фактора злокачественной трансформации цервикального эпителия у пациентов сравниваемых групп;

изучить онкологический анамнез исследуемых женщин и его значимость в генезе высокозлокачественных цервикальных интраэпителиальных плоскоклеточных поражений;

проанализировать влияние однонуклеотидного полиморфизма генов *IL6* (rs1800797) и *IL6R* (rs2228145) на течение цервикальных интраэпителиальных плоскоклеточных поражений.

Материалы и методы исследования. На клинической базе кафедры акушерства и гинекологии с курсом повышения квалификации и переподготовки Белорусского государственного медицинского университета (БГМУ) в 1-й городской клинической больнице г. Минска в период с 2020 по 2025 г. осуществлено проспективное лонгитюдное когортное исследование с участием 152 женщин раннего репродуктивного возраста (18–35 лет) с гистологически подтвержденным диагнозом цервикального интраэпителиального плоскоклеточного поражения, ассоциированного с ВПЧ ВКР.

Исследуемые пациенты были разделены на 2 группы: в 1-ю группу вошли 89 (58,55 %) женщин с цервикальным интраэпителиальным плоскоклеточным поражением низкой степени – LSIL (диагноз по Международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10) – N87.0 – слабовыраженная дисплазия шейки матки), 2-ю группу составили 63 (41,45 %) женщины с цервикальным интраэпителиальным плоскоклеточным поражением высокой степени – HSIL (диагноз по МКБ-10 – N87.1 и N87.2 – умеренная дисплазия шейки матки и резко выраженная дисплазия шейки матки). Протокол исследования и письменное информированное согласие на участие в нем утверждены Комитетом по биомедицинской этике БГМУ.

Включение пациентов в исследование проводилось в случае соблюдения следующих критериев: возраст от 18 до 35 лет; наличие ВПЧ-ассоциированного цервикального плоскоклеточного интраэпителиального поражения, подтвержденного гистологически; письменное добровольное информированное согласие.

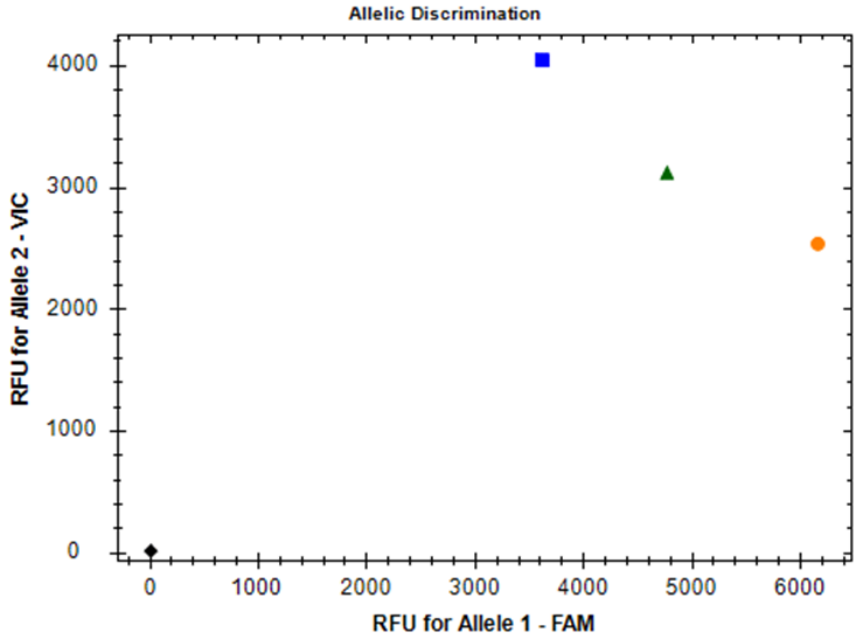
Критериями исключения являлись: вакцинация против вируса папилломы человека; наличие на момент включения в исследование следующих заболеваний и состояний: морфологически верифицированные злокачественные образования (в том числе шейки матки), беременность и лактация, инфекции, передаваемые половым путем.

В ходе выполнения исследования на каждого участника оформлялась индивидуальная карта (первичный учетный документ), содержащая паспортные данные, возраст, данные поведенческого, онкологического и акушерско-гинекологического анамнеза, сопутствующую гинекологическую и экстрагенитальную патологию, результаты антропометрических, лабораторных и специальных методов исследования.

Выявление однонуклеотидного полиморфизма генов *IL6* (rs1800797) и *IL6R* (rs2228145) выполнялось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени (ПЦР-РВ) по следующему алгоритму: после забора проб биологического материала (отделяемое из цервикального канала) у пациентов из анализируемых образцов проводилось отделение дезоксирибонуклеиновых кислот (ДНК) от других компонентов полученного материала с помощью набора реагентов для выделения ДНК/РНК из биологического материала методом магнитной сорбции ALPREP (ООО «Альгимед Техно», Республика Беларусь), предназначенного для одновременного выделения ДНК и РНК из биологического материала и последующего анализа получаемого препарата ДНК/РНК с помощью ПЦР и ПЦР с этапом обратной транскрипции (ОТ-ПЦР). Далее выполнялся качественный анализ генотипа полученных образцов ДНК, подразумевающий специфическое определение в них целевых последовательностей исследуемых локусов генов.

Методика определения полиморфных вариантов исследуемых генов заключалась в амплификации методом ПЦР фрагментов ДНК *in vitro* посредством реакции, катализируемой ДНК-полимеразой в присутствии специфических праймеров, меченных флуоресцентными метками, а также дезоксирибонуклеотидтрифосфатов в заданном реакционном буфере. В настоящем исследовании в качестве олигонуклеотидных зондов, меченых флуоресцентными метками, использовались аллель-специфичные праймеры, фланкирующие участки ДНК, содержащие анализируемые полиморфные варианты и TaqMan MGB зонды 40xTaqMan® SNP Genotyping Assays rs1800797 (Applied Biosystems, США) Cat. № C__1839695_20 и аллель-специфичные праймеры, фланкирующие участки ДНК, содержащие анализируемые полиморфные варианты и TaqMan MGB зонды 40xTaqMan® SNP Genotyping Assays rs2228145 (Applied Biosystems) Cat. № C__16170664_10. Необходимым условием для проведения амплификации целевой последовательности явилось отсутствие ингибиторов полимеразы в реакционной смеси. Детекции продуктов ПЦР-ВР проводились системой Bio-Rad CFX96 (Bio-Rad Laboratories, США).

В результате амплификации флуоресценция красителей возрастала пропорционально росту количества копий участка исследуемого гена. Каждый краситель флуоресцировал в определенном спектре, что позволило сделать заключение о генотипе исследуемых образцов. Интерпретация результатов амплификации проводилась по 40-му циклу амплификации в соответствии с рисунком.



Аллельная дискриминация

Allelic discrimination

На рисунке представлены результаты исследования 4 образцов ДНК в отношении определения однонуклеотидного полиморфизма A/G гена *IL6* (rs1800797). Один из них является гетерозиготой *A*/*G* (треугольник), второй – гомозиготой *A/A* (квадрат), третий – гомозиготой *G/G* (круг), четвертый – отрицательный контроль (ромб). В отношении детекции варианта A/C гена *IL6R* (rs2228145) использовалась аналогичная трактовка: гетерозигота *A/C* – треугольник, гомозигота *C*/*C* – квадрат, гомозигота *A*/*A* – круг, отрицательный контроль – ромб.

Результаты исследования подвергнуты статистической обработке с применением MS Office Excel 2021 и программ Statistica 12.0, DataTab Software. Проверяли распределение полученных данных на нормальность; при распределении, отличном от нормального, описательная статистика проводилась с применением непараметрических методов: определяли медиану, верхний и нижний квартили; результаты представляли в форме Me [LQ; UQ]. Сравнительный анализ небинарных признаков проводили с применением теста Манна – Уитни, бинарных — при помощи критерия хи-квадрат (χ^2). Показателем статистической значимости между группами принято значение $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Наиболее значимые клинико-анамнестические характеристики исследуемых пациентов представлены в табл. 1, из которой следует, что возраст пациентов, их поведенческие особенности, метод контрацепции, коинфицирование другими инфекциями, передаваемыми половым путем, и состояние вагинальной микробиоты являются значимыми факторами цервикального канцерогенеза.

Таблица 1. **Клинико-анамнестические характеристики пациентов исследуемых групп**

Table 1. **Clinical and anamnestic characteristics of the patients in the study groups**

Показатель	Группа 1 (n = 89)	Группа 2 (n = 63)	Статистическая значимость различий	
			p	χ^2
Возраст	27 [23,94; 29,42]	30 [26,78; 30,54]	0,002*	–
Курение	17 (19,10 %)	37 (58,73 %)	<0,001*	2,29
Возраст полового дебюта	19 [18; 20,50]	16 [15; 18]	<0,001*	–
Количество половых партнеров	3 [2; 4]	7 [5; 9]	<0,001*	–
Барьерный метод контрацепции	42 (47,19 %)	15 (23,81 %)	0,04*	8,60
Гормональный метод контрацепции	8 (8,99 %)	7 (11,11 %)	0,67	0,19
Инфекции, передаваемые половым путем	5 (5,62 %)	12 (19,05 %)	0,01*	6,69
Рецидивирующий бактериальный вагиноз	4 (4,49 %)	22 (34,92 %)	<0,001*	24,08
Рецидивирующий кандидозный вагинит	2 (2,25 %)	9 (14,29 %)	0,005*	7,96

Примечание. Здесь и в табл. 2 * отмечены статистически значимые межгрупповые различия ($p < 0,05$).

Результаты проведенного типирования ВПЧ ВКР, являющегося ключевым этиологическим фактором цервикального канцерогенеза, выявили статистически значимое доминирование ВПЧ 16-го типа в 2-й группе наблюдения. Установлено, что данный генотип вируса детектирован у 39 (61,90 %) пациентов с HSIL по сравнению с 30 (33,70 %) случаями в группе LSIL ($\chi^2 = 9,12$; $p = 0,003$; OR = 2,76; 95 % CI = 1,42–5,37), что свидетельствует о его определяющей роли в генезе высокозлокачественных цервикальных интраэпителиальных плоскоклеточных поражений.

Оценка частоты онкологических заболеваний у ближайших родственников в сравниваемых группах продемонстрировала статистически значимое двукратное увеличение доли отягощенного семейного онкоанамнеза в 2-й группе наблюдения по сравнению с 1-й (38,09 % против 15,45 %; $\chi^2 = 10,65$; $p = 0,002$; OR = 3,04; 95 % CI = 1,54–6,02). Кроме того, установлено, что наследственная отягощенность по РШМ зафиксирована у 5 (7,94 %) пациентов с гистологически верифицированным HSIL, тогда как в группе LSIL аналогичный показатель наблюдался лишь в 1 (1,12 %) случае ($\chi^2 = 4,52$; $p = 0,034$; OR = 7,57; 95 % CI = 8,86–66,61), что также подтверждает статистическую значимость различий.

Доказательством генетических механизмов цервикального канцерогенеза являются полученные нами результаты оценки и сравнения частот генотипов и аллелей однонуклеотидных по-

лиморфизмов генов *IL6* (rs1800797) и *IL6R* (rs2228145) у исследуемых женщин, представленные в табл. 2.

Таблица 2. **Сравнение частот генотипов и аллелей однонуклеотидных полиморфизмов генов *IL6* (rs1800797) и *IL6R* (rs2228145) у исследуемых пациентов**

Table 2. **Comparison of genotype and allele frequencies of single nucleotide polymorphisms in the *IL6* (rs1800797) and *IL6R* (rs2228145) genes among the studied patients**

Ген, SNP	Генотип, аллель	Частота, %		*p*-value	OR	95 % CI
		Группа 1 (n = 89)	Группа 2 (n = 63)			
IL6 rs1800797	*A/A*	15,56	27,87	**0,099**	2,09	0,87–5,06
	A/G	60,00	40,98	0,031*	0,47	0,23–0,94
	G/G	24,44	31,15	0,456	1,40	0,63–3,07
	G	54,44	51,64	0,640	0,89	0,55–1,45
	A	45,56	48,36	0,640	1,12	0,69–1,82
IL6R rs2228145	*A/A*	50,00	42,86	0,414	0,75	0,37–1,51
	A/C	41,11	47,62	0,508	1,30	0,65–2,62
	C/C	8,89	9,52	1,000	1,08	0,29–3,76
	A	70,56	66,67	0,530	0,84	0,50–1,41
	C	29,44	33,33	0,530	1,20	0,71–2,01

Представленные результаты демонстрируют статистически значимые межгрупповые различия в распределении частот генотипов однонуклеотидного полиморфизма rs1800797 гена *IL6*: в сравнении с пациентами с цервикальными интраэпителиальными плоскоклеточными поражениями низкой степени в группе пациентов с поражениями высокой степени генотип *A/A* встречался чаще на уровне тенденции (p = 0,099; OR = 2,09; 95 % CI = 0,87–5,06); генотип *A/G*, напротив, статистически значимо чаще встречался у пациентов с поражениями низкой степени (p = 0,031; OR = 0,47; 95 % CI = 0,23–0,94).

Статистически значимых различий в распределении частот аллелей и генотипов однонуклеотидного полиморфизма rs2228145 гена *IL6R* нами выявлено не было.

Заключение. Таким образом, помимо анамнестических и поведенческих факторов, в реализации ВПЧ-ассоциированного цервикального канцерогенеза очевидна роль генетических факторов. Выявление и понимание этих детерминант может помочь в разработке улучшенных диагностических и прогностических тестов для пациентов с длительной персистенцией ВПЧ ВКР и цервикальными интраэпителиальными плоскоклеточными поражениями, а также стать важным компонентом профилактики цервикального рака, представляющего собой в настоящее время глобальную проблему мирового здравоохранения.

Результаты нашего исследования свидетельствуют о том, что генотип *A/G* однонуклеотидного полиморфизма rs1800797 гена *IL6* может быть маркером, указывающим на низкую вероятность риска развития цервикальных интраэпителиальных плоскоклеточных поражений высокой степени злокачественности, так как статистически значимо преобладал у пациентов с цервикальными интраэпителиальными плоскоклеточными поражениями низкой степени (p = 0,031; OR = 0,47; 95 % CI = 0,23–0,94), что, вероятно, свидетельствует об антиканцерогенном эффекте данного генотипа. Считаем необходимым проведение дальнейших крупномасштабных генетических исследований по данной проблеме с целью большего понимания генетического компонента цервикального рака и практического использования получаемых результатов в прогнозировании течения предраковых заболеваний шейки матки на популяционном уровне.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Risk factors for the development of cervical cancer: analysis of the evidence / J. Luvián–Morales, S. O. Gutiérrez–Enríquez, V. Granados–García, K. Torres–Poveda // Frontiers in Oncology. – 2024. – Vol. 14. – Art. 1378549. https://doi.org/10.3389/fonc.2024.1378549

2. Genetic variation in cervical preinvasive and invasive disease: a genome-wide association study / S. J. Bowden, B. Bodinier, I. Kallialaet [et al.] // The Lancet Oncology. – 2021. – Vol. 22, N 4. – P. 548–557. https://doi.org/10.1016/S1470-2045(21)00028-0

3. The Association of *TNF*-α Promoter Polymorphisms with Genetic Susceptibility to Cervical Cancer in a Chinese Han Population / J. Yang, Y. Wang, Sh. Zhang [et al.] // International Journal of General Medicine. – 2022. – Vol. 15. – P. 417–427. https://doi.org/10.2147/IJGM.S350263

4. Rewiring the T cell–suppressive cytokine landscape of the tumor microenvironment: a new frontier for precision anti–cancer therapy / L. Lopresti, V. Tatangelo, C. T. Baldari, L. Patrussi // Frontiers in Immunology. – 2024. – Vol. 15. – Art. 1418527. https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1418527

5. Interleukin–6 serves as a critical factor in various cancer progression and therapy / A. H. Mohamed, A. T. Ahmed, W. A. Abdulmonem [et al.] // Medical Oncology. – 2024. – Vol. 41, N 7. – Art. 182. https://doi.org/10.1007/s12032-024-02422-5

6. IL–6 and IL–10 in the serum and exfoliated cervical cells of patients infected with high–risk human papillomavirus / C. M. Bonin–Jacob, L. Z. Almeida–Lugo, M. A. M. Puga [et al.] // PLOS One. – 2021. – Vol. 16, N 3. – Art. e0248639. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248639

7. The exercise IL-6 enigma in cancer / S. T. Orange, J. Leslie, M. Ross [et al.] // Trends in Endocrinology and Metabolism. – 2023. – Vol. 34, N 11. – P. 749–763. https://doi.org/10.1016/j.tem.2023.08.001

8. The Role of IL-6 in Cancer Cell Invasiveness and Metastasis – Overview and Therapeutic Opportunities / M. Rašková, L. Lacina, Z. Kejík [et al.] // Cells. – 2022. – Vol. 11, N 22. – Art. 3698. https://doi.org/10.3390/cells11223698

9. Carrero, Y. N. In situ immunopathological events in human cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer: Review / Y. N. Carrero, D. E. Callejas, J. A. Mosquera // Translational Oncology. – 2021. – Vol. 14, N 5. – Art. 101058. https://doi.org/10.1016/j.tranon.2021.101058

10. Multidimensional outlook on the pathophysiology of cervical cancer invasion and metastasis / N. George, P. Bhandari, P. Shruptha [et al.] // Molecular and Cellular Biochemistry. – 2023. – Vol. 478, N 11. – P. 2581–2606. https://doi.org/10.1007/s11010-023-04686-3

11. Human papillomavirus associated cervical lesion: pathogenesis and therapeutic interventions / J. Ye, L. Zheng, Y. He, X. Qi // MedComm. – 2023. – Vol. 4, N 5. – Art. e368. https://doi.org/10.1002/mco2.368

12. The value of cytokine levels in triage and risk prediction for women with persistent high-risk human papilloma virus infection of the cervix / B. Li, L. Zhang, J. Zhao [et al.] // Infectious Agents and Cancer. – 2019. – Vol. 14. – Art. 16. https://doi.org/10.1186/s13027-019-0231-z

13. Statistical meta-analysis to investigate the association between the Interleukin–6 (IL–6) gene polymorphisms and cancer risk / Md. Harun-Or-Roshid, Md. B. Ali, Jesmin, Md. N. H. Mollah // PLOS One. – 2021. – Vol. 16, N 3. – Art. e0247055. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0247055

14. Prema, A. G. Genetic predisposition of interleukin–6 (rs1800797) polymorphism in cervical cancer: A Meta–analysis / A. G. Prema, I. B. Kalarani, R. Veerabathiran // Biomedical Research and Therapy. – 2024. – Vol. 11, N 3. – P. 6268–6275. https://doi.org/10.15419/bmrat.v11i3.872

References

1. Luvian–Morales J., Gutierrez–Enriquez S. O., Granados–Garcia V., Torres–Poveda K. Risk factors for the development of cervical cancer: analysis of the evidence. *Frontiers in Oncology*, 2024, vol. 14, art. 1378549. https://doi.org/10.3389/fonc.2024.1378549

2. Bowden S. J., Bodinier B., Kallialaet I., Zuber V., Vuckovic D., Doulgeraki T. [et al.]. Genetic variation in cervical preinvasive and invasive disease: a genome-wide association study. *The Lancet Oncology*, 2021, vol. 22, no. 4, pp. 548–557. https://doi.org/10.1016/S1470-2045(21)00028-0

3. Yang J., Wang Y., Zhang Sh., Li Y., Li Ch., Liu W., Liu Sh., Liang Y., Zhang X., Yan Z., Shi L., Yao Y. The Association of *TNF*-a Promoter Polymorphisms with Genetic Susceptibility to Cervical Cancer in a Chinese Han Population. *International Journal of General Medicine*, 2022, vol. 15, pp. 417–427. https://doi.org/10.2147/IJGM.S350263

4. Lopresti L., Tatangelo V., Baldari C. T., Patrussi L. Rewiring the T cell–suppressive cytokine landscape of the tumor microenvironment: a new frontier for precision anti–cancer therapy. *Frontiers in Immunology*, 2024, vol. 15, art. 1418527. https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1418527

5. Mohamed A. H., Ahmed A. T., Abdulmonem W. A., Bokov D. O., Shafie A., Al-Hetty H. R. A. K., Hsu Ch.-Y., Alissa M., Nazir Sh., Jamali M. Ch., Mudhafar M. Interleukin–6 serves as a critical factor in various cancer progression and therapy. *Medical Oncology*, 2024, vol. 41, no. 7, art. 182. https://doi.org/10.1007/s12032-024-02422-5

6. Bonin–Jacob C. M., Almeida–Lugo L. Z., Puga M. A. M., Machado A. P., Padovani C. T. J., Noceti M. C., Ferreira A. M. T., dos Santos Fernandes C. E., Resende J. C. P., Bovo A. C., Tozetti I. A. IL–6 and IL–10 in the serum and exfoliated cervical cells of patients infected with high–risk human papillomavirus. *PLOS One*, 2021, vol. 16, no. 3, art. e0248639. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248639

7. Orange S. T., Leslie J., Ross M., Mann D. A., Wackerhage H. The exercise IL-6 enigma in cancer. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 2023, vol. 34, no. 11, pp. 749–763. https://doi.org/10.1016/j.tem.2023.08.001

8. Rašková M., Lacina L., Kejík Z., Venhauerová A., Skaličková M., Kolář M., Jakubek M., Rosel D., Smetana K. Jr., Brábek J. The Role of IL-6 in Cancer Cell Invasiveness and Metastasis – Overview and Therapeutic Opportunities. *Cells*, 2022, vol. 11, no. 22, art. 3698. https://doi.org/10.3390/cells11223698

9. Carrero Y. N., Callejas D. E., Mosquera J. A. In situ immunopathological events in human cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer: Review. *Translational Oncology*, 2021, vol. 14, no. 5, art. 101058. https://doi.org/10.1016/j.tranon.2021.101058

10. George N., Bhandari P., Shruptha P., Jayaram P., Chaudhari S., Satyamoorthy K. Multidimensional outlook on the pathophysiology of cervical cancer invasion and metastasis. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2023, vol. 478, no. 11, pp. 2581–2606. https://doi.org/10.1007/s11010-023-04686-3

11. Ye J., Zheng L., He Y., Qi X. Human papillomavirus associated cervical lesion: pathogenesis and therapeutic interventions. *MedComm*, 2023, vol. 4, no. 5, art. e368. https://doi.org/10.1002/mco2.368

12. Li B., Zhang L., Zhao J., Tan G., Zhang W., Zhang N., Tian J, Qu P. The value of cytokine levels in triage and risk prediction for women with persistent high-risk human papilloma virus infection of the cervix. *Infectious Agents and Cancer*, 2019, vol. 14, art. 16. https://doi.org/10.1186/s13027-019-0231-z

13. Harun-Or-Roshid Md., Ali Md. B., Jesmin, Mollah Md. N. H. Statistical meta–analysis to investigate the association between the Interleukin–6 (IL–6) gene polymorphisms and cancer risk. *PLOS One*, 2021, vol. 16, no. 3, art. e0247055. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0247055

14. Prema A. G., Kalarani I. B., Veerabathiran R. Genetic predisposition of interleukin–6 (rs1800797) polymorphism in cervical cancer: A Meta–analysis. *Biomedical Research and Therapy*, 2024, vol. 11, no. 3, pp. 6268–6275. https://doi.org/10.15419/bmrat.v11i3.872

Информация об авторах

Можейко Людмила Фёдоровна – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии с курсом повышения квалификации и переподготовки. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Независимости, 64, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: lfmozheiko@gmail.com

Пинчук Татьяна Васильевна – старший преподаватель кафедры акушерства и гинекологии с курсом повышения квалификации и переподготовки. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Независимости, 64, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: dr.tania.pinchuk@gmail.com. https://orcid.org/0009-0008-4922-2591

Седляр Никита Геннадьевич – канд. биол. наук, науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: n.sedlyar@igc.by. https://orcid.org/0009-0008-0088-8333

Information about the authors

Lyudmila F. Mozheiko – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology with the Course of Advanced Training and Retraining Belarusian State Medical University (64, Nezavisimosti Ave., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lfmozheiko@gmail.com

Tatsiana V. Pinchuk – Senior Lecturer of the Department of Obstetrics and Gynecology with the Course of Advanced Training and Retraining. Belarusian State Medical University (64, Nezavisimosti Ave., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: dr.tania.pinchuk@gmail.com. https://orcid.org/0009-0008-4922-2591

Nikita G. Sedlyar – Ph. D. (Biol.), Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: n.sedlyar@igc.by. https://orcid.org/0009-0008-0088-8333

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 615.322
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-1-57-67

Поступила в редакцию 24.07.2025
Received 24.07.2025

Т. И. Терпинская, К. В. Маркевич, Е. Ф. Полукошко

Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ *IN VITRO* ГЛИЦИРРЕТОВОЙ КИСЛОТЫ И ЕЕ СОЧЕТАНИЙ С МОДУЛЯТОРАМИ КАЛЬЦИЕВОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ

Аннотация. Исследована противоопухолевая активность *in vitro* глицирретовой кислоты и ее сочетаний с модуляторами кальциевого обмена клетки и ингибиторами кальций-связывающих белков.

Показано, что глицирретовая кислота дозозависимо подавляет рост клеток глиомы С6 и Hela. Усиление ингибирующего действия может быть достигнуто посредством сочетанного применения глицирретовой кислоты с А23187 (кальциевым ионофором), хлорпромазином (ингибитором кальмодулина), циклоспорином (ингибитором кальциневрина), U73122 (ингибитором фосфолипазы С), рутениевым красным (ингибитором ваниллоидных каналов временного рецепторного потенциала и митохондриального Ca^{2+}-унипортера), что обеспечивает более выраженный эффект, чем применение глицирретовой кислоты и указанных соединений по отдельности. Опухолевые клетки глиомы С6 и Hela были более чувствительны к глицирретовой кислоте, исследованным модуляторам кальциевого обмена клетки и сочетаниям глицирретовой кислоты с этими модуляторами, чем нормальные клетки первичной культуры головного мозга крысы.

Ключевые слова: глицирретовая кислота, рак, опухоль, кальций, ингибиторы кальциевых каналов, хлорпромазин, кальциневрин

Для цитирования: Терпинская, Т. И. Противоопухолевая активность *in vitro* глицирретовой кислоты и ее сочетаний с модуляторами кальциевой сигнализации / Т. И. Терпинская, К. В. Маркевич, Е. Ф. Полукошко // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2026. – Т. 23, № 1. – С. 57–67. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-1-57-67

Tatiana I. Terpinskaya, Karina V. Markevich, Elena F. Polukoshko

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

ANTITUMOR ACTIVITY *IN VITRO* OF GLYCYRRHETINIC ACID AND ITS COMBINATIONS WITH CALCIUM SIGNALING MODULATORS

Abstract. The antitumor activity in vitro of glycyrrhetinic acid and its combinations with modulators of cellular calcium metabolism and inhibitors of calcium-binding proteins was studied. It was shown that glycyrrhetinic acid dose-dependently suppresses the growth of glioma C6 and HeLa. Enhancement of the inhibitory effect can be achieved by combining glycyrrhetinic acid with A23187 (calcium ionophore), chlorpromazine (calmodulin inhibitor), cyclosporine (calcineurin inhibitor), U73122 (phospholipase C inhibitor), ruthenium red (inhibitor of vanilloid channels of transient receptor potential and mitochondrial Ca^{2+}-uniporter), which provides a more pronounced effect than the use of glycyrrhetinic acid and the above compounds separately. Tumor cells of glioma C6 and HeLa were more sensitive to glycyrrhetinnic acid, the studied modulators of cellular calcium metabolism and combinations of glycyrrhetinic acid with these modulators than normal cells of primary rat brain culture.

Keywords: glycyrrhetinic acid, cancer, tumor, calcium, calcium channel inhibitors, chlorpromazine, calcineurin

For citation: Terpinskaya T. I., Markevich K. V., Polukoshko E. F. Antitumor activity *in vitro* of glycyrrhetinic acid and its combinations with calcium signaling modulators. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2026, vol. 23, no. 1, pp. 57–67 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-1-57-67

Введение. Глицирретовая кислота – пентациклический тритерпеноид, агликон глицирризина, природного соединения, получаемого из растений, главным образом из корня солодки голой. Глицирретовая кислота используется как противовоспалительное, противовирусное, муколитическое средство [1, 2]. В литературе также представлены экспериментальные данные, свидетельствующие о противоопухолевой активности глицирризина и глицирретовой кислоты [3–5]. Вместе с тем, несмотря на многообещающие свойства тритерпеноидов, ряд исследований по-

© Терпинская Т. И., Маркевич К. В., Полукошко Е. Ф., 2026

казывает, что их противоопухолевая эффективность часто ограничена, что приводит лишь к частичной регрессии опухоли или недостаточному подавлению ее роста [6]. Это обусловливает интерес к поиску возможностей усиления противоопухолевого эффекта тритерпеноидов, в частности глицирретовой кислоты. Такой поиск может быть основан на изучении механизмов действия исследуемого препарата и анализе свойств структурно-сходных соединений, что может быть использовано как отправная точка при планировании экспериментов.

Ранее нами было показано, что подавление роста опухолевых клеток другим пентациклическим тритерпеноидом – бетулиновой кислотой, а также ее производным усиливается в присутствии ряда ингибиторов кальций-связывающих белков и кальциевых каналов/насосов [7, 8]. Структурное сходство глицирретовой и бетулиновой кислот позволило предположить, что для усиления противоопухолевого действия этих соединений могут быть использованы аналогичные подходы.

От кальция, который является вторичным посредником во множестве сигнальных каскадов, зависит целый ряд важнейших физиологических процессов. Стимуляция определенных рецепторов приводит к изменению концентрации ионов кальция в клетке, что, в свою очередь, индуцирует ответ на внешние и внутренние стимулы. Кальциевые каналы и кальций-зависимая сигнализация участвуют в регуляции клеточной выживаемости и пролиферации и часто характеризуются повышенной активностью в злокачественных клетках, поэтому рассматриваются как молекулярные мишени при терапии рака [9]. Ингибиторы кальциевых каналов могут как сами подавлять рост опухолевых клеток [10, 11], так и усиливать действие противоопухолевых препаратов [12, 13].

Цель работы – исследование *in vitro* противоопухолевого эффекта глицирретовой кислоты и ее сочетаний с модуляторами кальциевого обмена клетки и ингибиторами кальций-связывающих белков.

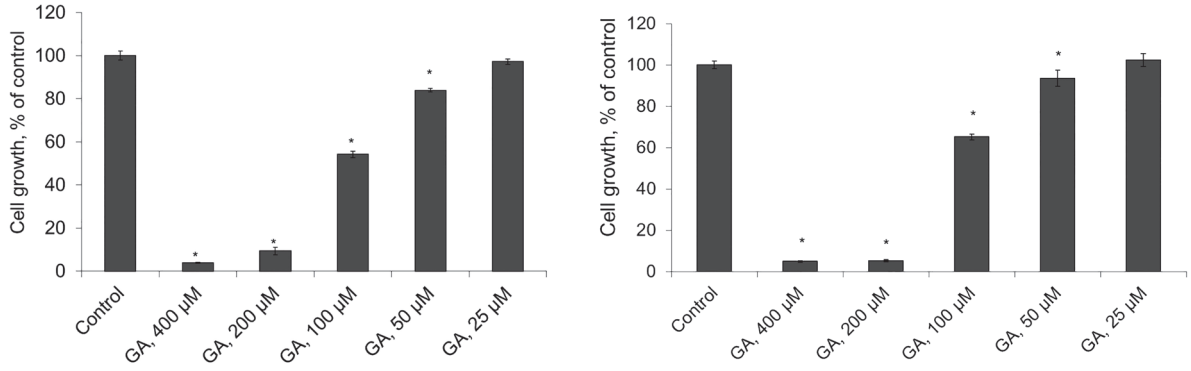
Материалы и методы исследования. *Клетки.* Глиома С6 (крыса, глиома), Hela (человек, рак шейки матки) из Белорусской коллекции культур клеток человека и животных РНПЦ эпидемиологии и микробиологии; первичная культура клеток головного мозга крысы, полученная, согласно [14], с соблюдением положений Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. Для экспериментов применяли клетки 2-недельной культуры.

Реактивы и исследуемые препараты. 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолиум бромид (MTT; Glentham Life Sciences, Великобритания), диметилсульфоксид (ДМСО; Sigma, США), 18β-глицирретовая кислота (Glentham Life Sciences), хлорпромазина гидрохлорид (Sigma), циклоспорин А (BLD Pharmatech GmbH, Германия), верапамил (Борисовский завод медицинских препаратов, Республика Беларусь), A23187 (Thermo Fisher Scientific, США), U73122 (ChemScene, США), рутениевый красный (Sigma), этиленгликоль-бис(2-аминоэтиловый эфир)-N,N,N,N-тетрауксусная кислота (ЭГТА; Sigma).

Проведение экспериментов. Клетки, высеянные в лунки 96-луночных планшетов, культивировали 24 ч при температуре 37 °С и 5 % CO_2 в среде ДМЕМ (Sigma) с добавлением 10 % эмбриональной телячьей сыворотки и антибиотиков. Затем вносили исследуемые препараты, в контроле – растворитель (физиологический раствор с конечной концентрацией ДМСО 0,1 или 0,2 % в различных опытах). Культивировали 48 ч, оценивали ингибирующий эффект препаратов на клетки с помощью МТТ-теста [15]. Оптическую плотность раствора формазана измеряли при длине волны 545 нм с помощью автоматического ИФА-анализатора (ChemWell, США) при длине волны сравнения 700 нм.

Статистическая обработка. Полученный цифровой материал обрабатывали с помощью пакетов программ Excel и Statistica 13 и представляли в виде средней арифметической и ее стандартной ошибки. Отличия между сериями считали достоверными при $p < 0,05$ согласно критерию Манна – Уитни.

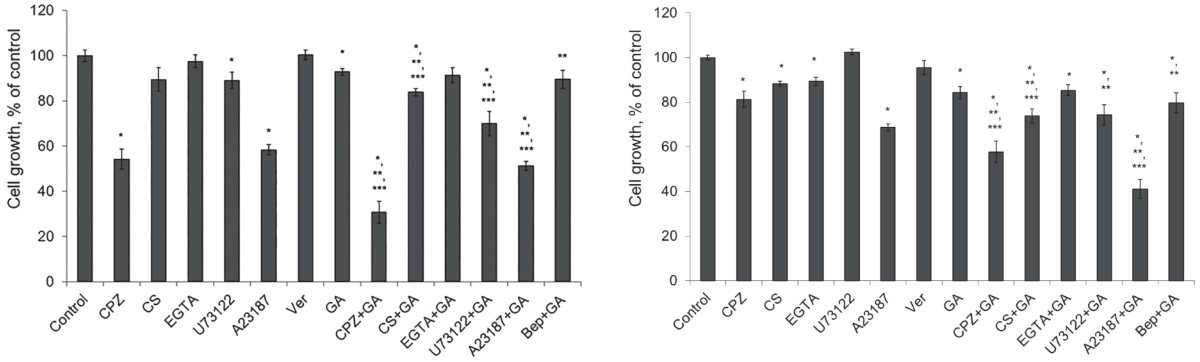
Результаты и их обсуждение. Полученные результаты показали, что глицирретовая кислота в концентрации от 50 до 400 μМ дозозависимо подавляла рост клеток глиомы С6 и Hela (рис. 1).



a *b*

Рис. 1. Влияние глицирретовой кислоты (GA) на рост клеток глиомы С6 (*a*) и Hela (*b*); МТТ-тест, $n = 6$ (* – $p < 0{,}05$ при сравнении с контролем)

Fig. 1. Effect of glycyrrhetinic acid (GA) on the growth of HeLa cells (*a*) and C6 glioma cells (*b*); MTT assay, $n = 6$ (* – $p < 0.05$ compared to control)



a *b*

Рис. 2. Влияние хлорпромазина (CPZ, 14 μM), циклоспорина (CS, 2 μM), ЭГТА (EGTA, 0,2 мМ), U73122 (10 μM), A23187 (2,5 μM), верапамила (Ver, 30 μM) и глицирретовой кислоты (GA, 70 μM) на рост клеток глиомы С6 (*a*) и Hela (*b*), $n = 6$ (* – $p < 0{,}05$ при сравнении с контролем; ** – $p < 0{,}05$ при сравнении с эффектом CPZ, CS, EGTA, U73122, A23187 или Ver; *** – $p < 0{,}05$ при сравнении с эффектом GA)

Fig. 2. Effect of chlorpromazine (CPZ, 14 μM), cyclosporine (CS, 2 μM), EGTA (EGTA, 0.2 mM), U73122 (10 μM), A23187 (2.5 μM), verapamil (Ver, 30 μM), and glycyrrhetinic acid (GA, 70 μM) on the growth of C6 glioma cells (*a*) and HeLa cells (*b*), $n = 6$ (* – $p < 0.05$ compared to control; ** – p – < 0.05 compared to CPZ, CS, EGTA, U73122, A23187, or Ver; *** – $p < 0.05$ compared to GA)

Хлорпромазин и циклоспорин вызывали торможение роста опухолевых клеток или тенденцию к торможению роста, а также способствовали усилению противоопухолевого действия глицирретовой кислоты (рис. 2).

В медицине хлорпромазин применяется как нейролептическое средство, однако в литературе также описана его противоопухолевая активность [16]. Исследование механизмов действия хлорпромазина показало, что он влияет на многие кальций-зависимые процессы. В частности, хлорпромазин способен подавлять активность кальмодулина — универсального кальций-связывающего белка, участвующего в регуляции клеточной выживаемости и пролиферации благодаря взаимодействию с различными целевыми белками [17]. Кроме того, показано, что хлорпромазин может ингибировать Ca^{2+}-АТФазу эндоплазматического ретикулума [18] и кальциевые каналы, регулируемые кальциевым депо [19–21], независимо от кальмодулина. Вместе с тем на некоторых моделях продемонстрированы и другие эффекты хлорпромазина, механизм которых не связан напрямую с ионами кальция, например, ингибирование синтеза ДНК, процессов транскрипции, митоза и передачи проопухолевых сигналов, повышение проницаемости клеточных мембран [16].

Циклоспорин А, использующийся в клинической практике как иммунодепрессант, ингибирует кальций-зависимый белок кальциневрин, который активируется при повышении концентрации ионов кальция в клетке. Для полной активации кальциневрин должен связаться с ионами кальция и с кальмодулином [22, 23]. Активация кальциневрина и его мишеней установлена в различных типах раковых клеток (глиобластомы, лейкемии, колоректального рака, рака простаты, яичников, молочной железы, печени, поджелудочной железы, легких). Активированный кальциневрин способствует выживаемости и пролиферации опухолевых стволовых клеток, миграции и метастазированию [23]. Продемонстрирована способность циклоспорина А ингибировать рост опухолевых клеток [24–26]. Вышесказанное свидетельствует о том, что противоопухолевая активность хлорпромазина и циклоспорина может быть связана с их способностью подавлять кальций-зависимые процессы.

ЭГТА (хелатор кальция), U73122 (ингибитор фосфолипазы С, который ингибирует гидролиз фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфата с образованием инозитол-1,4,5-трифосфата, что приводит к снижению высвобождения Ca^{2+} из эндоплазматического ретикулума и уменьшению концентрации свободного цитозольного Ca^{2+}) и верапамил (блокатор потенциалзависимых кальциевых каналов L-типа) оказывали слабое ингибирующее действие как на рост опухолевых клеток, так и на противоопухолевый эффект глицирретовой кислоты либо не оказывали эффекта (рис. 2).

А23187 (кальциевый ионофор, способствующий прохождению двухвалентных катионов через клеточные мембраны) подавлял рост клеток глиомы С6 и Hela, а также усиливал действие 70 μM (рис. 2) и 120 μM (рис. 3) глицирретовой кислоты. Эффект при сочетанном применении препаратов был в 1,1−4,5 раза более выраженным, чем при их применении по отдельности (рис. 2, 3).

Хлорпромазин показал дозовую зависимость действия на рост опухолевых клеток и на эффект глицирретовой кислоты. В концентрации 7–28 μM этот препарат подавлял клеточный рост в 1,2–4,3 раза. Сочетанное применение хлорпромазина и глицирретовой кислоты способствовало усилению эффекта: при наибольшей использованной концентрации хлорпромазина наблюдалось более мощное торможение клеточного роста, чем при применении хлорпромазина и глицирретовой кислоты порознь (усиление эффекта в 2,2–4,2 раза по сравнению с эффектом хлорпромазина и в 6,6−8,1 раза – по сравнению с эффектом глицирретовой кислоты) (рис. 4).

Рутениевый красный (ингибитор митохондриального Ca^{2+}-унипортера [27], ваниллоидных каналов временного рецепторного потенциала (TRPV) [28, 29] и рианодин-чувствительных каналов возбудимых клеток [30]) подавлял рост опухолевых клеток в 1,4–1,6 раза (рис. 5). Рутениевый красный и хлорпромазин усиливали действие друг друга, что более ярко проявлялось в отношении клеток глиомы С6 (подавление роста в 6,3 раза при сочетанном действии препаратов), чем клеток Hela (подавление роста в 2,4 раза). Рутениевый красный и глицирретовая кислота усиливали действие друг друга − эффект сочетанного применения в наших экспериментах был

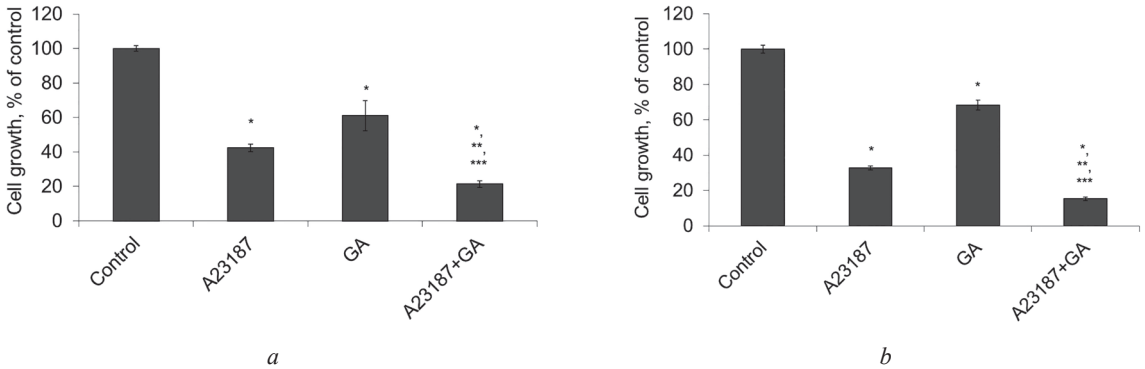
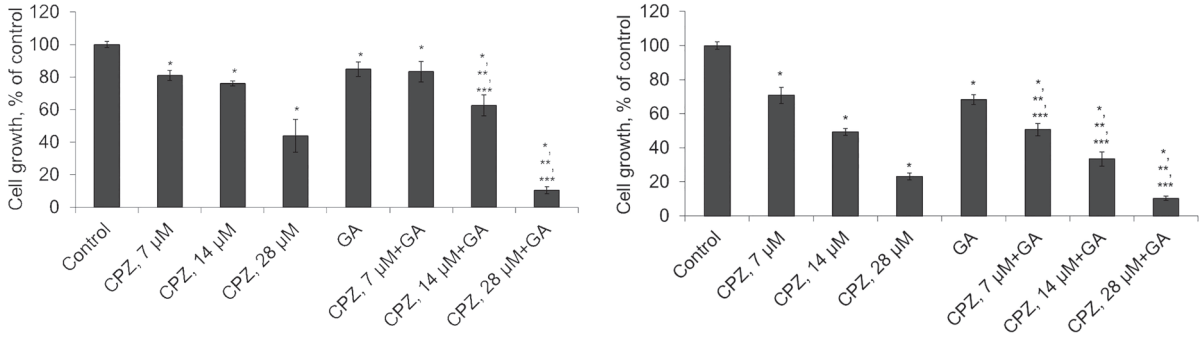


Рис. 3. Влияние совместного применения А23187 (2,5 μM) и глицирретовой кислоты (GA, 120 μM) на рост клеток глиомы С6 (*a*), $n = 12$ и Hela (*b*), $n = 6$ (* – $p < 0{,}05$ при сравнении с контролем; ** – $p < 0{,}05$ при сравнении с эффектом А23187; *** – $p < 0{,}05$ при сравнении с эффектом GA)

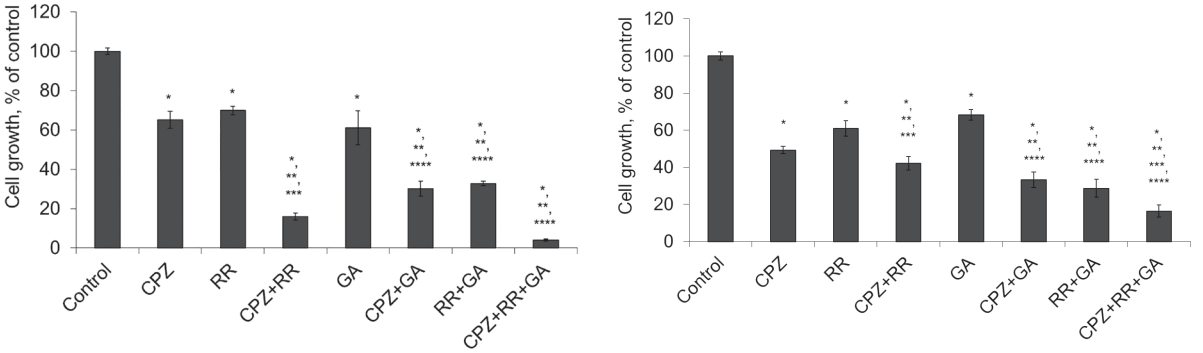
Fig. 3. Effect of the combined use of A23187 (2.5 μM) and glycyrrhetinic acid (GA, 120 μM) on the growth of C6 glioma cells (*a*), $n = 12$, and HeLa cells (*b*), $n = 6$ (* – $p < 0.05$ compared to control; ** – $p < 0.05$ compared to A23187; *** – $p < 0.05$ compared to GA)



a *b*

Рис. 4. Влияние глицирретовой кислоты (GA, 120 μM) и различных доз хлорпромазина (CPZ) на рост клеток глиомы C6 (*a*) и Hela (*b*), $n = 6$ ($^{*} – p < 0{,}05$ при сравнении с контролем; $^{**} – p < 0{,}05$ при сравнении с эффектом CPZ; $^{***} – p < 0{,}05$ при сравнении с эффектом GA)

Fig. 4. Effect of glycyrrhetinic acid (GA, 120 μM) and various doses of chlorpromazine (CPZ) on the growth of C6 glioma cells (*a*) and HeLa cells (*b*), $n = 6$ ($^{*} – p < 0.05$ compared to control; $^{**} – p < 0.05$ compared to CPZ; $^{***} – p < 0.05$ compared to GA)



a *b*

Рис. 5. Влияние совместного применения хлорпромазина (CPZ, 14 μM), рутениевого красного (RR, 20 μM) и глицирретовой кислоты (GA, 120 μM) на рост клеток глиомы C6 (*a*), $n = 18$ и Hela (*b*), $n = 6$ ($^{*} – p < 0{,}05$ при сравнении с контролем; $^{**} – p < 0{,}05$ при сравнении с эффектом CPZ; $^{***} – p < 0{,}05$ при сравнении с эффектом RR; $^{****} – p < 0{,}05$ при сравнении с эффектом GA)

Fig. 5. Effect of the combined use of chlorpromazine (CPZ, 14 μM), ruthenium red (RR, 20 μM), and glycyrrhetinic acid (GA, 120 μM) on the growth of C6 glioma cells (*a*), $n = 18$, and HeLa cells (*b*), $n = 6$ ($^{*} – p < 0.05$ compared to control; $^{**} – p < 0.05$ compared to CPZ; $^{***} – p < 0.05$ compared to the effect of RR; $^{****} – p < 0.05$ compared to the effect of GA)

равен примерно сумме эффектов этих препаратов (подавление роста в 3,0–3,5 раза) (рис. 5). Совместное применение 14 μM хлорпромазина, 20 μM рутениевого красного и 120 μM глицирретовой кислоты оказывало наиболее выраженный ингибирующий эффект на опухолевые клетки, подавляя рост глиомы C6 и Hela в 24 и 6,1 раза соответственно.

Для сравнения действия глицирретовой кислоты и препаратов, которые наиболее выраженно усиливали ее противоопухолевое действие (хлорпромазина, рутениевого красного и A23187), на нормальные и опухолевые клетки нами были проведены эксперименты на первичной культуре клеток головного мозга крысы. Данная первичная культура представляет собой главным образом клетки астроглии (более 90 %), хотя может включать и небольшое количество других типов клеток, присутствующих в ткани мозга [31].

В экспериментах глицирретовая кислота (120 μM) способствовала ускорению клеточного роста в 1,2 раза (рис. 6). Таким образом, действие глицирретовой кислоты на нормальные клетки глии противоположно ее действию на клетки глиомы C6.

A23187 не повлиял на клеточный рост, но его сочетание с глицирретовой кислотой подавляло рост клеток в 1,1 раза (рис. 6). Это свидетельствует о том, что ингибирующий эффект A23187

в отношении нормальных клеток не проявлялся, а в сочетании с глицирретовой кислотой проявлялся гораздо слабее, чем в отношении опухолевых клеток.

Выявлено тормозящее клеточный рост действие хлорпромазина в концентрации 28 μM (в 3,1 раза), но не 7 и 14 μM (рис. 7). Сочетанное применение 14 или 28 μM хлорпромазина с глицирретовой кислотой привело к подавлению роста клеток (более выраженному, чем при действии только хлорпромазина) в 2,9 и 1,3 раза соответственно. Наблюдаемые эффекты хлорпромазина и его сочетания с глицирретовой кислотой на первичную культуру клеток головного мозга сходны с эффектами на глиому С6, но не полностью одинаковы, так как проявляются при более высоких дозах хлорпромазина.

Рутениевый красный замедлял рост клеток в 1,2 раза и более выраженно действовал в сочетании с хлорпромазином (подавление клеточного роста в 1,5 раза). Сочетание глицирретовой кислоты с рутениевым красным не привело к усилению эффекта по сравнению с действием последнего. Сочетание глицирретовой кислоты, хлорпромазина и рутениевого красного проявляло наиболее выраженный эффект, подавляя рост клеток в 3,9 раза (рис. 8). Согласно этим результатам рутениевый красный подавлял клеточный рост и вызвал тенденцию к усилению эффекта хлорпромазина и его сочетания с глицирретовой кислотой, но в гораздо меньшей степени, чем в экспериментах на опухолевых клетках.

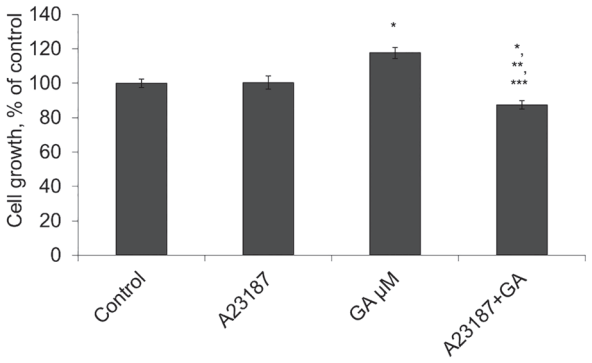


Рис. 6. Влияние совместного применения A23187 (2,5 μM) и глицирретовой кислоты (GA, 120 μM) на рост клеток головного мозга крысы, $n = 6$ ($^{*} – p < 0,05$ при сравнении с контролем; $^{**} – p < 0,05$ при сравнении с эффектом A23187; $^{***} – p < 0,05$ при сравнении с эффектом GA)

Fig. 6. Effect of the combined use of A23187 (2.5 μM) and glycyrrhetinic acid (GA, 120 μM) on the growth of rat brain cells, $n = 6$ ($^{*} – p < 0.05$ compared to control; $^{**} – p < 0.05$ compared to A23187; $^{***} – p < 0.05$ compared to GA)

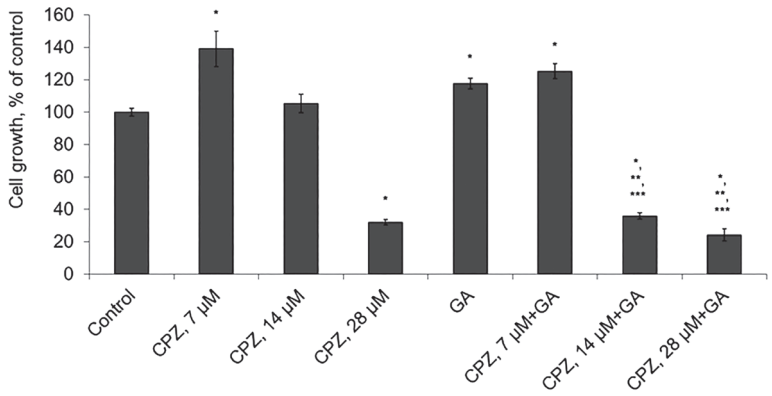


Рис. 7. Влияние глицирретовой кислоты (GA, 120 μM) и различных доз хлорпромазина (CPZ) на рост клеток головного мозга крысы, $n = 6$ ($^{*} – p < 0,05$ при сравнении с контролем; $^{**} – p < 0,05$ при сравнении с эффектом CPZ; $^{***} – p < 0,05$ при сравнении с эффектом GA)

Fig. 7. Effect of glycyrrhetinic acid (GA, 120 μM) and various doses of chlorpromazine (CPZ) on the growth of rat brain cells, $n = 6$ ($^{*} – p < 0.05$ compared to control; $^{**} – p < 0.05$ compared to the effect of CPZ; $^{***} – p < 0.05$ compared to the effect of GA)

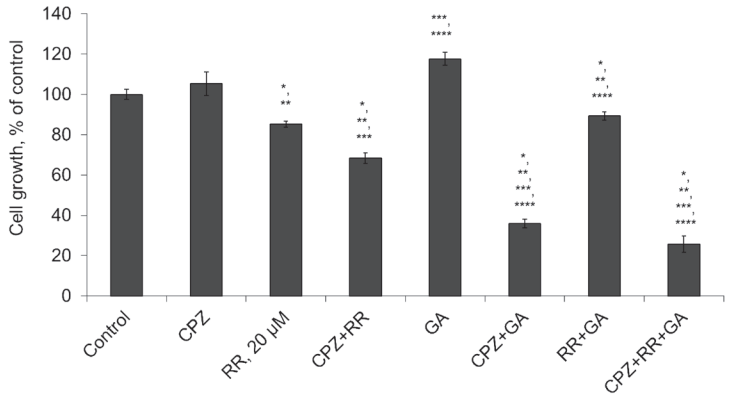


Рис. 8. Влияние совместного применения хлорпромазина (CPZ, 14 μM), рутениевого красного (RR, 20 μM) и глицирретовой кислоты (GA, 120 μM) на рост клеток головного мозга крысы, $n = 6$ (* – $p < 0,05$ при сравнении с контролем; ** – $p < 0,05$ при сравнении с эффектом Хп; *** – $p < 0,05$ при сравнении с эффектом RR; **** – $p < 0,05$ при сравнении с эффектом ГЛК)

Fig. 8. Effect of the combined use of chlorpromazine (CPZ, 14 μM), ruthenium red (RR, 20 μM), and glycyrrhetinic acid (GA, 120 μM) on the growth of rat brain cells, $n = 6$ (* – $p < 0.05$ compared to control; ** – $p < 0.05$ compared to CPZ; *** – p < 0.05 compared to RR; **** – $p < 0.05$ compared to GA)

Исходя из полученных данных, можно сказать, что механизмы, чувствительные к хлорпромазину и циклоспорину А (среди них – механизмы, зависимые от кальмодулина, кальциневрина и регулируемых ими белков, а также, возможно, кальмодулин- и кальциневрин-независимые механизмы), фосфолипаза С, а также ингибируемые рутениевым красным ваниллоидные каналы временного рецепторного потенциала и (или) митохондриальный Ca^{2+}-унипортер регулируют пролиферацию опухолевых клеток, а блокирование этих механизмов тормозит опухолевый рост. Тот факт, что ингибирование указанных механизмов не ведет к снижению эффекта глицирретовой кислоты, позволяет сделать вывод о том, что они не требуются для реализации противоопухолевого эффекта последней.

Более того, наблюдается усиление противоопухолевого действия при сочетании глицирретовой кислоты и ингибиторов указанных выше кальций-связывающих белков и кальциевых каналов. Это свидетельствует о том, что глицирретовая кислота и использованные ингибиторы не препятствуют противоопухолевому действию друг друга. Так как большинство исследованных ингибиторов проявляют при сочетании с глицирретовой кислотой аддитивное действие, можно предположить, что биохимические пути реализации их противоопухолевого эффекта хотя бы частично перекрываются. Это, в свою очередь, может объясняться тем, что глицирретовая кислота, возможно, действует на несколько молекулярных мишеней и внутриклеточных сигнальных путей.

Противоопухолевая активность кальциевого ионофора А23187 и усиление эффекта при его сочетании с глицирретовой кислотой говорят о том, что поступление ионов кальция в клетку с помощью ионофора способствует торможению клеточного роста и эффекту глицирретовой кислоты. С другой стороны, так как хелатор кальция ЭГТА не изменял эффект глицирретовой кислоты, ее действие, вероятно, не обусловлено поступлением ионов кальция в клетку из внешней среды. Возможно, что росту опухолевых клеток способствует именно активность кальциевых каналов, а ионофор-зависимый перенос ионов кальция имеет противоположный эффект на клеточный рост.

Сравнение результатов, полученных на глиоме С6 и на клетках головного мозга крысы, показывает, что опухолевые клетки более чувствительны к глицирретовой кислоте, чем нормальные. Согласно представленным данным глицирретовая кислота не оказывала ингибирующего эффекта на нормальные клетки, полученные из головного мозга.

В то же время активность кальмодулина или других хлорпромазин-чувствительных механизмов играет роль в пролиферации не только злокачественных, но и нормальных клеток. Так,

хлорпромазин дозозависимо подавлял клеточный рост и усиливал ингибирующее действие глицирретовой кислоты на рост клеток головного мозга крысы.

Роль митохондриального кальциевого унипортера и ваниллоидных каналов временного рецепторного потенциала в росте нормальных клеток астроглии, вероятно, менее значима, чем в росте злокачественной глиомы С6, так как рутениевый красный, а также сочетания рутениевого красного и А23187 с глицирретовой кислотой и (или) хлорпромазином оказывали на рост нормальных клеток менее выраженное действие, чем на опухолевые клетки.

Более широкие исследования чувствительности различных типов клеток к данным соединениям и механизмов реализации их действия на клеточный рост позволят уточнить спектр возможных целевых клеток и тканей.

Заключение. Глицирретовая кислота проявляет противоопухолевое действие *in vitro*, дозозависимо подавляя рост клеток глиомы С6 и Hela.

Усиление ингибирующего действия может быть достигнуто посредством сочетанного применения глицирретовой кислоты с А23187 (кальциевым ионофором), хлорпромазином (ингибитором кальмодулина), циклоспорином (ингибитором кальциневрина), U73122 (ингибитором фосфолипазы С), рутениевым красным (ингибитором ваниллоидных каналов временного рецепторного потенциала и митохондриального Ca^{2+}-унипортера), что обеспечивает более выраженный эффект, чем применение глицирретовой кислоты и указанных соединений по отдельности.

Опухолевые клетки глиомы С6 и Hela более чувствительны к глицирретовой кислоте, исследованным модуляторам кальциевого обмена клетки и сочетаниям глицирретовой кислоты с этими модуляторами, чем нормальные клетки первичной культуры головного мозга крысы.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. *Glycyrrhiza* Genus: Enlightening Phytochemical Components for Pharmacological and Health-Promoting Abilities / J. Sharifi-Rad, C. Quispe, J. Herrera-Bravo [et al.] // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. – 2021. – Vol. 2021. – Art. 7571132. https://doi.org/10.1155/2021/7571132

2. Pharmacological Features of 18β-Glycyrrhetinic Acid: A Pentacyclic Triterpenoid of Therapeutic Potential / P. Shinu, G. L. Gupta, M. Sharma [et al.] // Plants. – 2023. – Vol. 12, N 5. – Art. 1086. https://doi.org/10.3390/plants12051086

3. Терпинская, Т. И. Противоопухолевые свойства глицирризиновой и глицирретовой кислоты / Т. И. Терпинская // Новости медико-биологических наук. – 2023. – Т. 23, № 3. – С. 235–252.

4. Oncopreventive and oncotherapeutic potential of licorice triterpenoid compound glycyrrhizin and its derivatives: Molecular insights / R. Jain, M. A. Hussein, S. Pierce [et al.] // Pharmacological Research. – 2022. – Vol. 178. – Art. 106138. https://doi.org/10.1016/j.phrs.2022.106138

5. Advances in the roles of glycyrrhizic acid in cancer therapy / Y. Zhang, Z. Sheng, J. Xiao [et al.] // Frontiers in Pharmacology. – 2023. – Vol. 14. – Art. 1265172. https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1265172

6. Chemopreventive and Anticancer Activity of Selected Triterpenoids in Melanoma / N. Dycha, M. Michalak-Tomczyk, J. Jachuła [et al.] // Cancers. – 2025. – Vol. 17, N 10. – Art. 1625. https://doi.org/10.3390/cancers17101625

7. Влияние бетулиновой кислоты и модуляторов кальциевого обмена на рост опухолевых клеток / Т. И. Терпинская, Т. Л. Янченко, М. А. Рубинская, Е. Ф. Полукошко // Биохимия и молекулярная биология. – 2024. – Т. 3, № 1. – С. 136–142.

8. Влияние антагонистов TRP-каналов и ингибиторов кальций-связывающих белков на противоопухолевый эффект производного бетулиновой кислоты *in vitro* / Т. И. Терпинская, К. В. Маркевич, М. А. Рубинская [и др.] // Новости медико-биологических наук. – 2024. – Т. 24, № 3. – С. 121–122.

9. Calcium channels as pharmacological targets for cancer therapy / X. Liu, C. Feng, L. Yan [et al.] // Clinical and Experimental Medicine. – 2025. – Vol. 25, N 1. – Art. 94. https://doi.org/10.1007/s10238-025-01632-z

10. Pleiotropic Pharmacological Actions of Capsazepine, a Synthetic Analogue of Capsaicin, against Various Cancers and Inflammatory Diseases / M. H. Yang, S. H. Jung, G. Sethi, K. S. Ahn // Molecules. – 2019. – Vol. 24, N 5. – Art. 995. https://doi.org/10.3390/molecules24050995

11. Trpv6 channel targeting using monoclonal antibody induces prostate cancer cell apoptosis and tumor regression / A. Haustrate, C. Cordier, G. Shapovalov [et al.] // Cell Death and Disease. – 2024. – Vol. 15, N 6. – Art. 419. https://doi.org/10.1038/s41419-024-06809-0

12. Combined Poziotinib with Manidipine Treatment Suppresses Ovarian Cancer Stem-Cell Proliferation and Stemness / H. Lee, J. W. Kim, D.-S. Lee, S.-H. Min // International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – Vol. 21, N 19. – Art. 7379. https://doi.org/10.3390/ijms21197379

13. The calcium channel TRPC6 promotes chemotherapy-induced persistence by regulating integrin α6 mRNA splicing / D. Mukhopadhyay, H. L. Goel, C. Xiong [et al.] // Cell Reports. – 2023. – Vol. 42, N 11. – Art. 113347. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.113347

14. Activated protein C and thrombin participation in the regulation of astrocyte functions / A. E. Ivanova, L. R. Gorbacheva, S. M. Strukova [et al.] // Biochemistry (Moscow) Supplement Series A: Membrane and Cell Biology. – 2014. – Vol. 8, N 1. – P. 50–59. https://doi.org/10.1134/s1990747813050048

15. Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays / T. Mosmann // Journal of Immunological Methods. – 1983. – Vol. 65, N 1–2. – P. 55–63. https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4

16. Kamgar-Dayhoff, P. Multifaceted effect of chlorpromazine in cancer: implications for cancer treatment / P. Kamgar-Dayhoff, T. I. Brelidze // Oncotarget. – 2021. – Vol. 12, N 14. – P. 1406–1426. https://doi.org/10.18632/oncotarget.28010

17. An alternative assay to discover potential calmodulin inhibitors using a human fluorophore-labeled CaM protein / M. González-Andrade, M. Figueroa, R. Rodríguez-Sotres [et al.] // Analytical Biochemistry. – 2009. – Vol. 387, N 1. – P. 64–70. https://doi.org/10.1016/j.ab.2009.01.002

18. Khan, S. Z. The effects of phenothiazines and other calmodulin antagonists on the sarcoplasmic and endoplasmic reticulum Ca^{2+} pumps / S. Z. Khan, C. L. Longland, F. Michelangeli // Biochemical Pharmacology. – 2000. – Vol. 60, N 12. – P. 1797–1806. https://doi.org/10.1016/s0006-2952(00)00505-0

19. Chlorpromazine inhibits store-operated calcium entry and subsequent noradrenaline secretion in PC12 cells / S.-Y. Choi, Y.-H. Kim, Y.-K. Lee, K.-T. Kim // British Journal of Pharmacology. – 2001. – Vol. 132, N 2. – P. 411–418. https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0703840

20. Neuroleptic Chlorpromazine Modulates Ca^{2+} Responses in Macrophages / Z. I. Krutetskaya, L. S. Milenina, V. G. Antonov, A. D. Nozdrachev // Doklady Biochemistry and Biophysics. – 2020. – Vol. 490, N 1. – P. 25–28. https://doi.org/10.1134/S160767292001010x

21. Sigma-1 Receptor Ligands Chlorpromazine and Trifluoperazine Attenuate Ca^{2+} Responses in Rat Peritoneal Macrophages / L. S. Milenina, Z. I. Krutetskaya, V. G. Antonov, N. I. Krutetskaya // Cell and Tissue Biology. – 2022. – Vol. 16, N 3. – P. 233–244. https://doi.org/10.1134/S1990519x22030075

22. Creamer, T. P. Calcineurin / T. P. Creamer // Cell Communication and Signaling. – 2020. – Vol. 18, N 1. – Art. 137. https://doi.org/10.1186/s12964-020-00636-4

23. Chen, L. Calcineurin in development and disease / L. Chen, M. Song, C. Yao // Genes and Diseases. – 2021. – Vol. 9, N 4. – P. 915–927. https://doi.org/10.1016/j.gendis.2021.03.002

24. Cyclosporine A Suppresses the Malignant Progression of Oral Squamous Cell Carcinoma *in vitro* / L. Gao, J. Dong, N. Zhang [et al.] // Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry. – 2019. – Vol. 19, N 2. – P. 248–255. https://doi.org/10.2174/1871520618666181029170605

25. Lessons to Learn From Low-Dose Cyclosporin-A: A New Approach for Unexpected Clinical Applications / C. Flores, G. Fouquet, I. C. Moura [et al.] // Frontiers in Immunology. – 2019. – Vol. 10, – Art. 588. https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00588

26. Differential dose-response effect of cyclosporine A in regulating apoptosis and autophagy markers in MCF-7 cells / S. S. Siddiqui, R. Hodeify, S. Mathew [et al.] // Inflammopharmacology. – 2023. – Vol. 31, N 4. – P. 2049–2060. https://doi.org/10.1007/s10787-023-01247-4

27. Ruthenium red attenuates acute pancreatitis by inhibiting MCU and improving mitochondrial function / X. Yu, C. Dai, X. Zhao [et al.] // Biochemical and Biophysical Research Communications. – 2022. – Vol. 635. – P. 236–243. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2022.10.044

28. Jara-Oseguera, A. Ruthenium red: Blocker or antagonist of TRPV channels? / A. Jara-Oseguera // Cell Calcium. – 2024. – Vol. 119. – Art. 102874. https://doi.org/10.1016/j.ceca.2024.102874

29. Molecular details of ruthenium red pore block in TRPV channels / R. A. Pumro, J. J. De Jesús-Pérez, A. D. Protopopova [et al.] // EMBO Reports. – 2024. – Vol. 25, N 2. – P. 506–523. https://doi.org/10.1038/s44319-023-00050-0

30. Singh, P. Reversal in Cognition Impairments, Cholinergic Dysfunction, and Cerebral Oxidative Stress Through the Modulation of Ryanodine Receptors (RyRs) and Cysteinyl Leukotriene-1 (CysLT1) Receptors / P. Singh, B. Sharma // Current Neurovascular Research. – 2016. – Vol. 13, N 1. – P. 10–21. https://doi.org/10.2174/1567202612666151026105610

31. Saura, J. Microglial cells in astroglial cultures: a cautionary note / J. Saura // Journal of Neuroinflammation. – 2007. – Vol. 4. – Art. 26. https://doi.org/10.1186/1742-2094-4-26

References

1. Sharifi-Rad J., Quispe C., Herrera-Bravo J., Belén L. H., Kaur R., Kregiel D. [et al.]. *Glycyrrhiza* Genus: Enlightening Phytochemical Components for Pharmacological and Health-Promoting Abilities. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021, vol. 2021, art. 7571132. https://doi.org/10.1155/2021/7571132

2. Shinu P., Gupta G. L., Sharma M., Khan S., Goyal M., Nair A. B. [et al.]. Pharmacological Features of 18β-Glycyrrhetinic Acid: A Pentacyclic Triterpenoid of Therapeutic Potential. *Plants*, 2023, vol. 12, no. 5, art. 1086. https://doi.org/10.3390/plants12051086

3. Terpinskaya T. I. Antitumor properties of glycyrrhizic and glycyrrhetic acids. *Novosti mediko-biologicheskikh nauk = News of biomedical sciences*, 2023, vol. 23, no. 3, pp. 235–252 (in Russian).

4. Jain R., Hussein M. A., Pierce S., Martens C., Shahagadkar P., Munirathinam G. Oncopreventive and oncotherapeutic potential of licorice triterpenoid compound glycyrrhizin and its derivatives: Molecular insights. *Pharmacological Research*, 2022, vol. 178, art. 106138. https://doi.org/10.1016/j.phrs.2022.106138

5. Zhang Y., Sheng Z., Xiao J., Li Y., Huang J., Jia J., Zeng X., Li L. Advances in the roles of glycyrrhizic acid in cancer therapy. *Frontiers in Pharmacology*, 2023, vol. 14, art. 1265172. https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1265172

6. Dycha N., Michalak-Tomczyk M., Jachuła J., Okoń E., Jarząb A., Tokarczyk J., Koch W., Gaweł-Bęben K., Kukula-Koch W., Wawruszak A. Chemopreventive and Anticancer Activity of Selected Triterpenoids in Melanoma. *Cancers*, 2025, vol. 17, no. 10, art. 1625. https://doi.org/10.3390/cancers17101625

7. Terpinskaya T. I., Yanchenko T. L., Rubinskaya M. A., Polukoshko E. F. Effect of betulinic acid and calcium metabolism modulators on tumor cell growth. *Biokhimiya i molekulyarnaya biologiya = Biochemistry and molecular biology*, 2024, vol. 3, no. 1, pp. 136–142 (in Russian).

8. Terpinskaya T. I., Markevich K. V., Rubinskaya M. A., Yanchenko T. L., Polukoshko E. F., Piven' Yu. A. Effect of TRP channel antagonists and calcium-binding protein inhibitors on the antitumor effect of a betulinic acid derivative in vitro. *Novosti mediko-biologicheskikh nauk = News of biomedical sciences*, 2024, vol. 24, no. 3, pp. 121–122 (in Russian).

9. Liu X., Feng C., Yan L., Cao J., Zhu X., Li M., Zhao G. Calcium channels as pharmacological targets for cancer therapy. *Clinical and Experimental Medicine*, 2025, vol. 25, no. 1, art. 94. https://doi.org/10.1007/s10238-025-01632-z

10. Yang M. H., Jung S. H., Sethi G., Ahn K. S. Pleiotropic Pharmacological Actions of Capsazepine, a Synthetic Analogue of Capsaicin, against Various Cancers and Inflammatory Diseases. *Molecules*, 2019, vol. 24, no. 5, art. 995. https://doi.org/10.3390/molecules24050995

11. Haustrate A., Cordier C., Shapovalov G., Mihalache A., Desruelles E., Soret B. [et al.]. Trpv6 channel targeting using monoclonal antibody induces prostate cancer cell apoptosis and tumor regression. *Cell Death and Disease*, 2024, vol. 15, no 6, art. 419. https://doi.org/10.1038/s41419-024-06809-0

12. Lee H., Kim J. W., Lee D.-S., Min S.-H. Combined Poziotinib with Manidipine Treatment Suppresses Ovarian Cancer Stem-Cell Proliferation and Stemness. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, vol. 21, no. 19, art. 7379. https://doi.org/10.3390/ijms21197379

13. Mukhopadhyay D., Goel H. L., Xiong C., Goel S., Kumar A., Li R., Zhu L. J., Clark J. L., Brehm M. A., Mercurio A. M. The calcium channel TRPC6 promotes chemotherapy-induced persistence by regulating integrin α6 mRNA splicing. *Cell Reports*, 2023, vol. 42, no. 11, art. 113347. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.113347

14. Ivanova A. E., Gorbacheva L. R., Strukova S. M., Pinelis V. G., Reiser G. Activated protein C and thrombin participation in the regulation of astrocyte functions *Biochemistry (Moscow) Supplement Series A: Membrane and Cell Biology*, 2014, vol. 8, no. 1, pp. 50–59. https://doi.org/10.1134/S1990747813050048

15. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 1983, vol. 65, no. 1–2, pp. 55–63. https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4

16. Kamgar-Dayhoff P., Brelidze T. I. Multifaceted effect of chlorpromazine in cancer: implications for cancer treatment. *Oncotarget*, 2021, vol. 12, no. 14, pp. 1406–1426. https://doi.org/10.18632/oncotarget.28010

17. González-Andrade M., Figueroa M., Rodríguez-Sotres R., Mata R., Sosa-Peinado A. An alternative assay to discover potential calmodulin inhibitors using a human fluorophore-labeled CaM protein. *Analytical Biochemistry*, 2009, vol. 387, no. 1, pp. 64–70. https://doi.org/10.1016/j.ab.2009.01.002

18. Khan S. Z., Longland C. L., Michelangeli F. The effects of phenothiazines and other calmodulin antagonists on the sarcoplasmic and endoplasmic reticulum Ca^{2+} pumps. *Biochemical Pharmacology*, 2000, vol. 60, no. 12, pp. 1797–1806. https://doi.org/10.1016/s0006-2952(00)00505-0

19. Choi S.-Y., Kim Y.-H., Lee Y.-K., Kim K.-T. Chlorpromazine inhibits store-operated calcium entry and subsequent noradrenaline secretion in PC12 cells. *British Journal of Pharmacology*, 2001, vol. 132, no. 2, pp. 411–418. https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0703840

20. Krutetskaya Z. I., Milenina L. S., Antonov V. G., Nozdrachev A. D. Neuroleptic Chlorpromazine Modulates Ca^{2+} Responses in Macrophages. *Doklady Biochemistry and Biophysics*, 2020, vol. 490, no. 1, pp. 25–28. https://doi.org/10.1134/S160767292001010x

21. Milenina L. S., Krutetskaya Z. I., Antonov V. G., Krutetskaya N. I. Sigma-1 Receptor Ligands Chlorpromazine and Trifluoperazine Attenuate Ca^{2+} Responses in Rat Peritoneal Macrophages. *Cell and Tissue Biology*, 2022, vol. 16, no. 3, pp. 233–244. https://doi.org/10.1134/S1990519x22030075

22. Creamer T. P. Calcineurin. *Cell Communication and Signaling*, 2020, vol. 18, no 1, art. 137. https://doi.org/10.1186/s12964-020-00636-4

23. Chen L., Song M., Yao C. Calcineurin in development and disease. *Genes and Diseases*, 2021, vol. 9, no. 4, pp. 915–927. https://doi.org/10.1016/j.gendis.2021.03.002

24. Gao L., Dong J., Zhang N., Le Z., Ren W., Li S., Li F., Song J., Wang Q., Dou Z., Park S. Y., Zhi K. Cyclosporine A Suppresses the Malignant Progression of Oral Squamous Cell Carcinoma *in vitro*. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 2019, vol. 19, no. 2, pp. 248–255. https://doi.org/10.2174/1871520618666181029170605

25. Flores C., Fouquet G., Moura I. C., Maciel T. T., Hermine O. Lessons to Learn From Low-Dose Cyclosporin-A: A New Approach for Unexpected Clinical Applications. *Frontiers in Immunology*, 2019, vol. 10, art. 588. https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00588

26. Siddiqui S. S., Hodeify R., Mathew S., Alsawaf S., Alghfeli A., Matar R. [et al.]. Differential dose-response effect of cyclosporine A in regulating apoptosis and autophagy markers in MCF-7 cells. *Inflammopharmacology*, 2023, vol. 31, no. 4, pp. 2049–2060. https://doi.org/10.1007/s10787-023-01247-4

27. Yu X., Dai C., Zhao X, Huang Q., He X., Zhang R., Lin Z., Shen Y. Ruthenium red attenuates acute pancreatitis by inhibiting MCU and improving mitochondrial function. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2022, vol. 635, pp. 236–243. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2022.10.044

28. Jara-Oseguera A. Ruthenium red: Blocker or antagonist of TRPV channels? *Cell Calcium*, 2024, vol. 119, art. 102874. https://doi.org/10.1016/j.ceca.2024.102874

29. Pumroy R. A., De Jesús-Pérez J. J., Protopopova A. D., Rocereta J. A., Fluck E. C., Fricke T., Lee B. H., Rohacs T., Leffler A., Moiseenkova-Bell V. Molecular details of ruthenium red pore block in TRPV channels. *EMBO Reports*, 2024, vol. 25, no. 2, pp. 506–523. https://doi.org/10.1038/s44319-023-00050-0

30. Singh P., Sharma B. Reversal in Cognition Impairments, Cholinergic Dysfunction, and Cerebral Oxidative Stress Through the Modulation of Ryanodine Receptors (RyRs) and Cysteinyl Leukotriene-1 (CysLT1) Receptors. *Current Neurovascular Research*, 2016, vol. 13, no. 1, pp. 10–21. https://doi.org/10.2174/1567202612666151026105610

31. Saura J. Microglial cells in astroglial cultures: a cautionary note. *Journal of Neuroinflammation*, 2007, vol. 4, art. 26. https://doi.org/10.1186/1742-2094-4-26

Информация об авторах

Терпинская Татьяна Ильинична – канд. биол. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: terpinskayat@mail.ru

Маркевич Карина Викторовна – мл. науч. сотрудник, аспирант. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: karinamorozova_karina@mail.ru

Полукошко Елена Федоровна – ст. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: efpoluko@list.ru

Information about the authors

Tatyana I. Terpinskaya – Ph. D. (Biol.), Associate Professor, Leading Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: terpinskayat@mail.ru

Karina V. Markevich – Junior Researcher, Postgraduate Student. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: karinamorozova_karina@mail.ru

Elena F. Polukoshko – Senior Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: efpoluko@list.ru

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 612.8.02
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-1-68-76

Поступила в редакцию 15.04.2025
Received 15.04.2025

А. А. Челноков, М. Г. Барканов

Великолукская государственная академия физической культуры и спорта, Великие Луки, Российская Федерация

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СПИНАЛЬНЫХ ЦЕНТРОВ БИЛАТЕРАЛЬНЫХ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ У СПОРТСМЕНОВ-ЛЕГКОАТЛЕТОВ

Аннотация. Цель исследования – оценить рефлекторную возбудимость моторных ответов билатеральных нижних конечностей у легкоатлетов при одиночном воздействии чрескожной электрической стимуляции спинного мозга (ЧЭССМ) в области копчикового сплетения на уровне Co_1-Co_2 и постактивационный эффект кратковременной неинвазивной ритмической электрической стимуляции (рЭС) копчикового сплетения на функциональное состояние спинальных центров билатеральных мышц-антагонистов бедра и голени.

У 30 спортсменов в возрасте 18–27 лет, специализирующихся в беге на короткие дистанции, оценивались амплитуды вызванных моторных ответов (ВМО) мышц бедра (RF – *musculus rectus femoris*, BF – *m. biceps femoris*) и голени (TA – *m. tibialis anterior*, GM – *m. gastrocnemius medialis*) при максимальной одиночной силе стимула (90 мА) по средней линии копчикового сплетения Co_1-Co_2 и влияние 10- и 60-секундной рЭС на возбудимость мотонейронов (МН) мышц нижних конечностей, вызываемую одиночной силой стимула на уровне T_{11}-T_{12} позвонков.

Однократная стимуляция копчикового сплетения вызывает большую рефлекторную возбудимость мотонейронных пулов экстензоров (GM) голени билатеральных конечностей. Рефлекторная возбудимость МН, вызываемая стимуляцией в области копчикового сплетения, выражена больше в спинальных центрах флексора (BF) бедра и экстензора (GM) голени левой конечности, чем в симметричных мышцах правой конечности. рЭС копчикового сплетения приводит к разнонаправленным изменениям в возбудимости МН мышц бедра и голени билатеральных конечностей: у одних спортсменов возбудимость повышалась, у других – снижалась. Постактивационный эффект рЭС копчикового сплетения, независимо от продолжительности ее воздействия, оказывает преимущественно в среднем по группе спортсменов облегчающие влияния на мотонейронные пулы спинальных центров мышц-антагонистов билатеральных конечностей.

Методики регистрации ВМО билатеральных нижних конечностей в ответ на умеренную одиночную чрескожную электрическую стимуляцию копчикового сплетения в области Co_1-Co_2 и рЭС копчикового сплетения могут быть использованы в клинической и спортивной медицине в качестве одного из методов интраоперационного нейрофизиологического мониторинга у пациентов.

Ключевые слова: чрескожная электрическая стимуляция спинного мозга (ЧЭССМ), ритмическая электрическая стимуляция (рЭС), вызванные моторные ответы (ВМО), облегчение, торможение, мотонейроны (МН), мышцы, копчиковое сплетение

Для цитирования: Челноков, А. А. Функциональное состояние спинальных центров билатеральных нижних конечностей у спортсменов-легкоатлетов / А. А. Челноков, М. Г. Барканов // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2026. – Т. 23, № 1. – С. 68–76. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-1-68-76

Andrey A. Chelnokov, Maxim G. Barkanov

Velikiye Luki State Academy of Physical Culture and Sports, Velikiye Luki, Russian Federation

FUNCTIONAL STATE OF THE SPINAL CENTERS OF THE BILATERAL LOWER LIMBS IN ATHLETES

Abstract. The aim of the study was to estimate the reflex excitability of motor responses of the bilateral lower limbs in athletes under single exposure to transcutaneous electrical stimulation of the spinal cord (tSCES) in the coccygeal plexus at the Co_1-Co_2 level and the post-activation effect of short-term noninvasive rhythmic electrical stimulation (rES) of the coccygeal plexus on the functional state of the spinal centers of the bilateral antagonist muscles of the thigh and tibial leg.

In 30 athletes aged 18-27 years, specializing in short-distance running, the amplitude of the MERs of the muscles of the thigh (RF – *musculus rectus femoris*, BF – *m. biceps femoris*) and tibial (TA – *m. tibialis anterior*, GM – *m. gastrocnemius medialis*) leg was evaluated at a maximum single stimulus force (90 mA) along the midline of the coccygeal plexus Co_1-Co_2 and the effect of 10- and 60-second rES on the excitability of MNs of the muscles of the lower limbs caused by a single stimulus force at the level of the T_{11}-T_{12} vertebrae.

© Челноков А. А., Барканов М. Г., 2026

A single electrical stimulation of the coccygeal plexus causes a greater reflex excitability of the motor neuronal pools of the extensor of the tibia of the bilateral extremities. The reflex excitability of MNs caused by stimulation in the coccygeal plexus is more pronounced in the spinal flexor centers of the thigh and tibial extensor of the left limb than in the symmetrical muscles of the right limb. rES of the coccygeal plexus leads to multidirectional changes in the excitability of MNs of the muscles of the thigh and tibial leg of the bilateral lower limbs: in some athletes, the excitability increased, in others it decreased. The post-activation effect rES of the coccygeal plexus, regardless of its duration of effect, has mainly, on average, a group of athletes, facilitating effect on the motor neuronal pools of the spinal centers of the antagonist muscles of the bilateral lower limbs.

The methods of registering the MERs of the bilateral lower extremities in response to moderate single percutaneous electrical stimulation of the coccygeal plexus in the area of Co_1-Co_2 and rES coccygeal plexus can be used in clinical and sports medicine, and as one of the methods of intraoperative neurophysiological monitoring in patients.

Keywords: transcutaneous electrical stimulation spinal cord (tSCES), rhythmic electrical stimulation (rES), motor evoked responses (MERs), facilitation, inhibition, motor neurons (MNs), muscles, coccygeal plexus

For citation: Chelnokov A. A., Barkanov M. G. Functional state of the spinal centers of the bilateral lower limbs in athletes. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2026, vol. 23, no. 1, pp. 68–76 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-1-68-76

Введение. Неинвазивный метод воздействия на нейрональные структуры спинного мозга с помощью чрескожной электрической стимуляции спинного мозга (ЧЭССМ) был предложен сравнительно недавно. В 2007 г. K. Minassian [1] и G. Courtine с соавт. [2] была описана методика вызова одновременных моторных моносинаптических ответов билатеральных нижних конечностей при накожной электрической стимуляции на нижнегрудном и поясничном уровнях позвоночника. В литературе встречается разная терминология изучаемых ответов: заднекорешковые мышечные рефлексы, мультисегментарные моносинаптические рефлексы, вызванные корешковые потенциалы, вызванные транспинальные потенциалы и вызванные моторные ответы (ВМО) [3]. Доказано, что эти коротколатентные рефлекторные ответы имеют моносинаптическую природу и идентичны Н-рефлексу мышц верхних и нижних конечностей [3].

В настоящее время неинвазивная ЧЭССМ является эффективным методом изучения спинальных механизмов регуляции локомоторных и постуральных функций у здоровых людей и пациентов с поражениями центральной нервной системы. ЧЭССМ нашла свое практическое применение и является одним из информативных методов интраоперационного нейрофизиологического мониторинга при оценке возбудимости мотонейронов (МН), целостности двигательных корешков и периферических нервов нижних конечностей у пациентов [3, 4], а также в двигательной нейрореабилитации [5]. Установлена эффективность регуляции локомоторной активности в горизонтальной вывеске (шагание в воздухе) у лиц с полным моторным параличом (AIS B) при двухуровневой неинвазивной стимуляции на уровне T_{11}-T_{12} совместно со стимуляцией над копчиковым сплетением (Co_1) [6]. Проведенные ранее исследования [7] показали, что разработанная нами методика трехуровневой мультисегментарной электрической стимуляции спинного мозга на уровне грудных T_{11}-T_{12} и поясничных L_1-L_2 позвонков и копчикового сплетения в области Co_1-Co_2 в течение 10 с повышает биоэлектрическую работу мышц и кинематические параметры контралатеральной конечности в различные фазы бегового шага у легкоатлетов. Однако до настоящего времени не изучались возможности вызова моторных ответов у человека с помощью ЧЭССМ в области копчикового сплетения на уровне Co_1-Co_2.

Цель работы – изучить особенности рефлекторной возбудимости моторных ответов билатеральных нижних конечностей у легкоатлетов при одиночном воздействии ЧЭССМ в области копчикового сплетения на уровне Co_1-Co_2 и постактивационного эффекта кратковременной неинвазивной ритмической электрической стимуляции (рЭС) копчикового сплетения на функциональное состояние спинальных центров билатеральных мышц-антагонистов бедра и голени.

Материалы и методы исследования. Исследование проводилось на базе НИИ проблем спорта и оздоровительной физической культуры Великолукской государственной академии физической культуры и спорта. В исследовании принимали участие 30 спортсменов мужского пола, специализирующихся в беге на короткие дистанции, которые подписали информированное согласие на участие в экспериментах. Протокол исследования был одобрен комиссией академии по вопросам этики (протокол № 4 от 2 ноября 2022 г.).

В первой части исследования у 9 спортсменов (20,75 ± 0,64 лет, КМС, I и II разряды) оценивалась амплитуда ВМО бедра и голени при максимальной одиночной силе стимула (90 мА) по средней линии копчикового сплетения Co_1-Co_2. Для сравнения ВМО билатеральных конечностей в зависимости от активации спинального участка была проведена вторая серия экспериментов на 12 спортсменах (20,75 ± 0,76 лет, КМС, I и II разряды), у которых оценивалась амплитуда ВМО бедра и голени при максимальной одиночной силе стимула (90 мА) по средней линии в области грудных T_{11}-T_{12} позвонков. В третьей серии экспериментов у 9 спортсменов (21,44 ± 1,01 лет, КМС, I и II разряды) оценивалось влияние 10- и 60-секундной рЭС в области копчикового сплетения на возбудимость спинальных центров мышц нижних конечностей, вызываемую одиночной силой стимула (90 мА) на уровне T_{11}-T_{12} позвонков.

Для оценки возбудимости α-МН мышц нижних конечностей и постактивационного эффекта рЭС копчикового сплетения применяли регистрацию ВМО [1, 2]. У испытуемых в положении лежа на кушетке лицом вниз осуществляли записи амплитуд ВМО с помощью электронейромиографа «Нейро-МВП-8». Твердый, посеребренный активный накожный стимулирующий электрод площадью 25 мм^2 располагали по средней линии позвоночника в области копчикового сплетения на уровне Co_1-Co_2 (рис. 1, *a*) и между остистыми отростками позвонков T_{11}-T_{12} позвоночника (рис. 1, *b*). Индифферентные накожные электроды из токопроводящей резины размером 5 × 9 см накладывали на гребнях подвздошных костей. Стимулирующий импульс имел прямоугольную форму, длительность – 1 мс. Интенсивность одиночного стимула составляла от 0 до 100 мА с шагом +5 мА. У каждого испытуемого регистрировалась кривая зависимости амплитуды ВМО билатеральных нижних конечностей от силы однократного электрического стимула, наносимого в зонах Co_1-Co_2 (рис. 1, *c*) и T_{11}-T_{12} (рис. 1, *d*). У всех испытуемых проводили 3–5 стимуляций с интервалом 15 с при каждой интенсивности одиночного стимула.

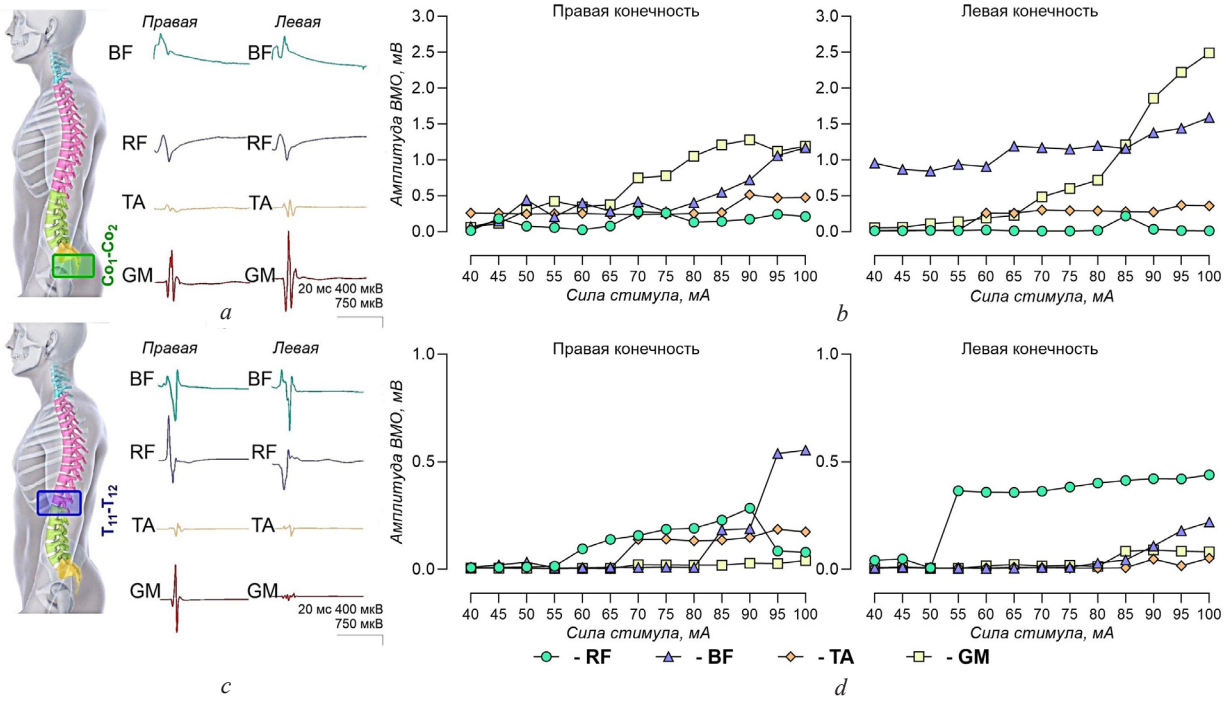


Рис. 1. Записи мышечных ответов нижних конечностей, вызываемых при стимуляции в области копчикового сплетения Co_1-Co_2 (*a*) и грудных T_{11}-T_{12} позвонков (*b*) в положении лежа у легкоатлетов, и индивидуальные кривые зависимости амплитуды моторных ответов мышц нижних конечностей от силы одиночных стимулов, наносившихся в области копчикового сплетения (*c*) и грудных позвонков (*d*)

Fig. 1. Recordings of the muscle responses of the lower limbs caused by stimulation in the coccygeal plexus area of Co_1-Co_2 (*a*) and thoracic T_{11}-T_{12} vertebrae (*b*) in the prone position in athletes and individual curves of dependence of the amplitude of motor responses of the muscles of the lower limbs on the strength of single stimuli applied in the area of the coccygeal plexus (*c*) and thoracic vertebrae (*d*)

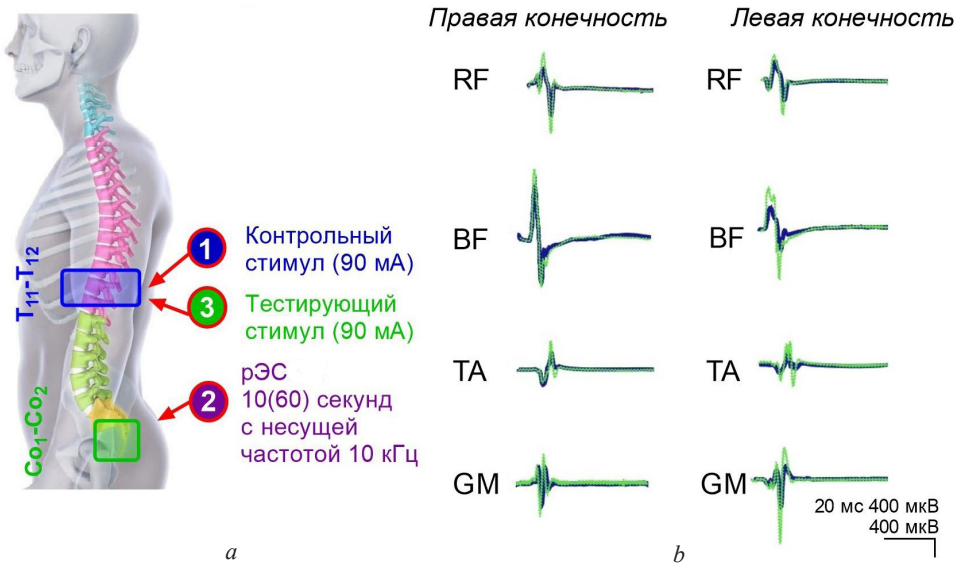


Рис. 2. Методика регистрации постактивационного эффекта рЭС копчикового сплетения разной продолжительности воздействия (*a*). Записи амплитуды контрольных ВМО и амплитуды тестирующих ВМО после 10-секундной рЭС в области копчикового сплетения Co_1-Co_2, вызываемого одиночной ЧЭССМ на уровне T_{11}-T_{12} позвонков в положении лежа у легкоатлетов (*b*)

Fig. 2. Method of recording the post-activation effect of rhythmic stimulation of the coccygeal plexus of different duration of exposure (*a*). Recordings of the amplitude of the control MERs and the amplitude of the testing MERs after a 10-second rES in the coccygeal plexus area of Co_1-Co_2 caused by a single tESCS at the level of T_{11}-T_{12} vertebrae, in the prone position of athletes (*b*)

ЭМГ-активность мышц (RF – *musculus rectus femoris*, BF – *m. biceps femoris*, TA – *m. tibialis anterior*, GM – *m. gastrocnemius medialis*) регистрировали на билатеральных конечностях с помощью поверхностных электродов из хлорида серебра (∅ = 9 мм). Активный регистрирующий электрод располагался в области двигательной точки мышцы, референтный электрод – по ходу ее волокон с межэлектродным расстоянием 2–2,5 см. Обработка записей амплитуд ВМО проводилась в программном обеспечении Нейро-МВП.NET с последующим их анализом от максимального негативного пика до максимального позитивного пика.

Постактивационный эффект безболезненной 10- и 60-секундной рЭС копчикового сплетения (стимулятор БИОСТИМ-5, импульсы прямоугольной формы, частота следования импульсов – 30 Гц, длительность импульсов – 0,5 мс, прямоугольные импульсы заполнялись несущей частотой 10 кГц) [7] оценивался по степени торможения или облегчения мышечных ответов, вызываемых одиночной силой стимула на уровне T_{11}-T_{12} позвонков (90 мА, электронейромиограф «Нейро-МВП-8»), в положении лежа на кушетке лицом вниз (рис. 2, *a*). У каждого испытуемого регистрировали амплитуды ВМО без рЭС (контрольный стимул или контроль) и сразу после рЭС (тестирующий стимул или тестирование) (рис. 2, *b*). Проводили 3 пары стимуляций (контроль-тестирование) для каждого испытуемого. Для предотвращения следовых эффектов воздействия стимуляции и полного восстановления возбудимости спинальных МН у испытуемых учитывали интервал отдыха между контрольной и тестирующей стимуляциями, который составлял 15 с, а между каждой парой стимуляций (контроль-тестирование) – 10 мин.

Статистический анализ проводился в программе Statistica, визуализация данных – в программе GraphPad Prism 8. Статистическая значимость принималась $p = 0{,}05$ для всех сравнений.

Результаты и их обсуждение. Однократная стимуляция копчикового сплетения вызывала наибольшие мышечные ответы GM билатеральных конечностей (правая – 0,52 мВ [0,10; 1,28]; левая – 0,84 мВ [0,12; 1,86]) по сравнению с TA (правая – 0,22 мВ [0,04; 0,56], $p = 0{,}000^{**}$; левая – 0,38 мВ [0,13; 1,36], $p = 0{,}002^{**}$), BF (правая – 0,27 мВ [0,06; 0,72], $p = 0{,}000^{**}$; левая – 0,41 мВ [0,10; 1,38], $p = 0{,}000^{**}$), RF (правая – 0,20 мВ [0,04; 0,55], $p = 0{,}000^{**}$; левая – 0,18 мВ [0,01; 0,39],

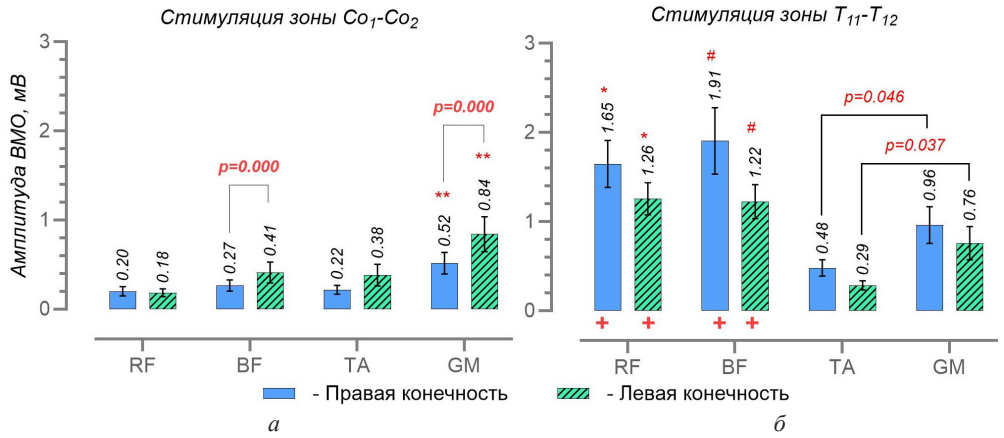


Рис. 3. Средние значения амплитуды ВМО нижних конечностей у легкоатлетов при стимуляции копчикового сплетения Co_1-Co_2 (*a*) и грудных T_{11}-T_{12} позвонков (*b*), мВ (*p* – достоверные отличия при уровне значимости *p* = 0,05; * – достоверные отличия в амплитуде ВМО RF по отношению к TA и GM; # – достоверные отличия в амплитуде ВМО BF по отношению к TA и GM; ** – достоверные отличия в амплитуде ВМО GM по отношению к TA, BF и RF (критерий Вилкоксона); + – достоверные различия в амплитудах ВМО при стимуляции зоны T_{11}-T_{12} по отношению к стимуляции зоны Co_1-Co_2 (критерий Краскела – Уоллиса))

Fig. 3. Mean values of the amplitude of the MERs of the limbs in athletes during stimulation in the coccygeal plexus of Co_1-Co_2 (*a*) and thoracic T_{11}-T_{12} vertebrae (*b*), mV (*p* – significant differences at the significance level of *p* = 0.05; * – significant differences in the amplitude of the WMO RF relative to TA and GM; # – significant differences in the amplitude of the MERs BF relative to TA and GM; ** – significant differences in the amplitude of the MERs GM relative to TA, BF and RF (Wilcoxon test); + – significant differences in the amplitudes of MERs during stimulation of the T_{11}-T_{12} l zone in relation to stimulation of at the Co_1-Co_2 (Kruskal – Wallis test)

p = 0,000**) (рис. 3, *a*). Амплитуды ВМО GM и BF левой конечности достоверно значимо преобладали на 0,34 мВ (*p* = 0,000) и 0,14 мВ (*p* = 0,000) соответственно по сравнению с правой конечностью. Не выявлено достоверно значимых различий в амплитудах мышечных ответов RF и TA левой и правой конечностей (*p* = 0,781; *p* = 0,249).

Выраженные моторные ответы обеих конечностей, вызываемые стимуляцией зоны T_{11}-T_{12}, характерны для мышц бедра RF (правая – 1,65 мВ [0,10; 3,99], *p* = 0,000*; левая – 1,26 мВ [0,42; 3,57], *p* = 0,000*) и BF (правая – 1,91 мВ [0,16; 6,08], *p* = 0,000#; левая – 1,22 мВ [0,01; 2,89], *p* = 0,000#) по сравнению с TA (правая – 0,48 мВ [0,08; 1,37]; левая – 0,29 мВ [0,02; 0,77]) и GM (правая – 0,96 мВ [0,02; 6,08]; левая – 0,76 мВ [0,05; 2,71]) (рис. 3, *b*). Достоверно значимых различий в амплитуде ВМО мышц бедра левой и правой конечностей не выявлено (*p* = 0,116–1,000). Однако мышечные ответы GM правой и левой конечностей были больше на 0,48 мВ (*p* = 0,046) и 0,47 мВ (*p* = 0,037) по сравнению с TA.

При стимуляции зоны T_{11}-T_{12} абсолютные величины амплитуд ВМО проксимальных мышц обеих конечностей больше, чем при стимуляции копчикового сплетения (рис. 3, *a*, *b*). В данном случае амплитуды мышечных ответов RF и BF правой конечности, вызванных стимуляцией зоны T_{11}-T_{12}, больше на 1,45 мВ (*p* = 0,000) и 1,64 мВ (*p* = 0,002) соответственно, левой конечности – на 1,08 мВ (*p* = 0,000) и 0,81 мВ (*p* = 0,002).

Изменение рефлекторной возбудимости моторных центров билатеральных нижних конечностей у легкоатлетов в ответ на 10-секундную рЭС носили индивидуальный характер: у одних спортсменов постактивационный эффект проявлялся облегчением амплитуды ВМО, а у других – торможением. У большинства спортсменов (4–8 человек из 9) амплитуда ВМО бедра и голени повышалась, однако уменьшение амплитуды ответов зарегистрировано у 1–5 человек из 9. Усреднение данных (рис. 4, *a*) показало, что постактивационный эффект 10-секундной рЭС сопровождался облегчением спинальных α-МН билатеральных конечностей. Облегчение амплитуд ВМО BF, TA, GM левой конечности было больше одноименных мышц правой конечности на 29,11; 6,44 и 5,52 % соответственно, а облегчение ВМО RF правой конечности – больше на 6,93 % одноименной мышцы левой конечности. При попарном сравнении выявлено только достоверно

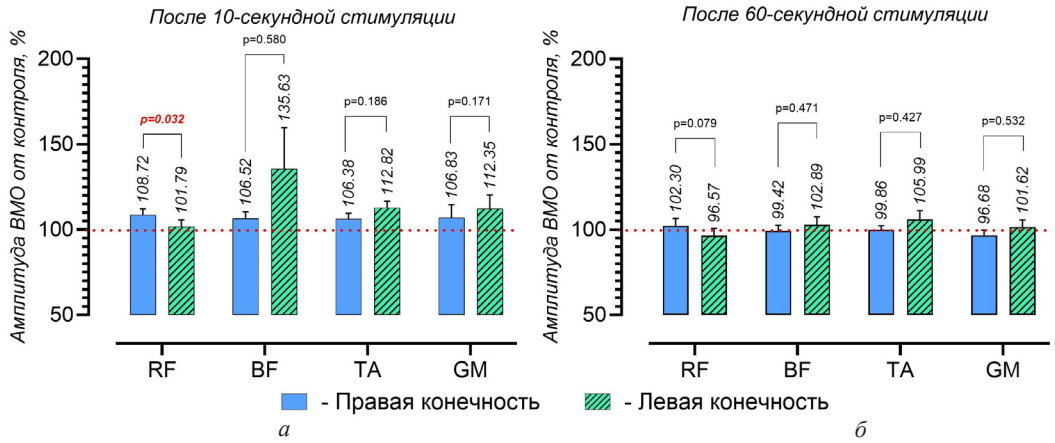


Рис. 4. Средние значения облегчения и торможения амплитуд ВМО нижних конечностей у легкоатлетов после прекращения 10- (*a*) и 60-секундной (*b*) рЭС копчикового сплетения, % (n = 9)
(p – достоверные отличия при уровне значимости p = 0,05 (критерий Вилкоксона))

Fig. 4. Mean values of facilitation and inhibition of the amplitudes of the MERs of the limbs in athletes after cessation 10- (*a*) and 60-second (*b*) rES in the coccygeal plexus, % (n = 9)
(p – significant differences with at the significance level of p = 0.05 (Wilcoxon test))

значимое превалирование облегчения ВМО правой RF в сравнении с левой одноименной мышцей (p = 0,032).

В постактивационный период 60-секундной рЭС у большинства легкоатлетов (3–8 человек из 9) регистрировалось повышение амплитуд ВМО, а у остальных (3–6 человек из 9) – снижение. При попарном сравнении усредненных амплитуд ВМО бедра и голени правой и левой конечностей не выявлено достоверно значимых различий в облегчении и торможении (p = 0,079–0,532) после 60-секундной рЭС (рис. 4, *b*). Множественное сравнение постактивационных эффектов рЭС на амплитуды ВМО (в %) билатеральных нижних конечностей у легкоатлетов показало однонаправленные изменения в рефлекторной возбудимости спинальных α-МН бедра и голени билатеральных конечностей вне зависимости от продолжительности воздействия рЭС (p = 0,098–0,634 Kruskal-Wallis test).

В результате собственных исследований на основании изучения особенностей ВМО билатеральных нижних конечностей было установлено, что у легкоатлетов при накожной электростимуляции зон T_{11}-T_{12} и Co_1-Co_2 в положении лежа на кушетке лицом вниз имели место отличительные особенности в возбудимости α-МН бедра и голени билатеральных конечностей. Рефлекторные моторные ответы у легкоатлетов различались в зависимости от зоны стимуляции спинного мозга, направления расположения мышц (проксимально или дистально) и стороны (правая или левая) конечности, с которой мышечные ответы были вызваны одиночным стимулом. Анализ и систематизация накопившихся данных показали, что в настоящее время накопилось многочисленное количество исследований в области изучения ВМО билатеральных конечностей, вызываемых стимуляцией зон шейных, грудных, поясничных и крестцовых сегментов спинного мозга у здоровых людей [1, 2, 8], при стимуляции зон шейного, пояснично-крестцового утолщений у спортсменов разной квалификации [8], при стимуляции зоны T_{11}-T_{12} у легкоатлетов [9]. Следовательно, полученные нами результаты о различии в моторных ответах билатеральных конечностей, вызываемых стимуляцией зоны T_{11}-T_{12}, дополняют их более точными данными о рефлекторной возбудимости спинальных центров мышц-антагонистов бедра и голени билатеральных конечностей у спортсменов, специализирующихся в беге на короткие дистанции.

Совершенно новые данные ВМО билатеральных конечностей получены нами при однократной стимуляции зоны копчикового сплетения. Впервые установлено, что при максимальной одиночной силе стимула на уровне Co_1-Co_2 амплитуда ВМО мышц голени (GM) билатеральных конечностей больше в сравнении с проксимальными мышцами (RF, BF) и дистальными флексорами (TA) обеих конечностей, при этом наибольшая рефлекторная возбудимость α-МН выраже-

на в спинальных центрах флексора бедра (BF) и экстензора голени (GM) левой конечности, чем в одноименных мышцах контралатеральной конечности.

Одним из результатов нашей работы является тот факт, что при стимуляции спинного мозга на уровне T_{11}-T_{12} выявлена большая рефлекторная активность проксимальных мышц билатеральных конечностей в сравнении с дистальными мышцами, а при стимуляции зоны в области копчикового сплетения – дистальных мышц-экстензоров голени (GM) симметричных конечностей. Мы полагаем, что такие различия могут быть связаны с разным расстоянием анатомического расположения мотонейронных пулов мышц бедра и голени в сегментах спинного мозга (RF – сегменты L_3-L_5, BF – L_5-S_2, TA – L_4-S_1, GM – S_1-S_2) [10] и зонами активации спинального участка (T_{11}-T_{12} и Co_1-Co_2), при которых потенциалы действия будут распространяться по проприоспинальным путям в ростральном или каудальном направлениях к двигательным ядрам флексоров и экстензоров бедра и голени, вызывая наибольшие рефлекторные ответы мышц от близлежащих стимуляционных зон спинного мозга.

В литературе накопилось большое количество работ о постактивационом влиянии ЧЭССМ на функциональное состояние моторной системы у человека [11–14]. В то же время мы не располагаем данными о том, как проявляют себя спинальные нейрональные структуры мышц бедра и голени билатеральных конечностей на воздействие рЭС копчикового сплетения. Наши исследования показали, что кратковременная рЭС копчикового сплетения приводит к изменению амплитуды моторных ответов, вызываемых однократной электрической стимуляцией на уровне T_{11}-T_{12} позвонков. Такая динамика амплитуды ВМО отражала опосредованный постактивационный эффект стимуляции копчикового сплетения на возбудимость мотонейронных пулов. Воздействие 10- и 60-секундной рЭС копчикового сплетения у легкоатлетов приводило к разнонаправленным изменениям в возбудимости спинальных центров мышц-антагонистов бедра и голени билатеральных конечностей: у одних спортсменов возбудимость повышалась, у других – снижалась. В целом постактивационный эффект рЭС копчикового сплетения у спортсменов, вне зависимости от продолжительности воздействия, проявлялся преимущественно облегчающими влияниями на α-МН спинальных центров мышц бедра и голени билатеральных конечностей.

При рассмотрении возможных физиологических механизмов, лежащих в основе облегчения/торможения спинальных центров мышц-антагонистов бедра и голени билатеральных конечностей, можно предположить, что причиной этому, вероятно, может быть изменение свойств синапсов, локализующихся в нейрональных сетях, обеспечивающих генерирование ВМО. Литературные данные последних лет [15] указывают, что рЭС на спинальные структуры приводит к разнообразным функциональным изменениям в синапсах, которые могут зависеть от зоны спинального участка размещения электродов при ЧЭССМ, интенсивности стимуляции, частоты и продолжительности. Многократная активация синапсов повышает потенциал покоя пресинаптической мембраны и таким образом способствует генерации потенциала действия в мышечном волокне, увеличению его амплитуды. Значительный по амплитуде потенциал действия обеспечивает выброс большого количества медиаторов в синаптическую щель. Помимо этого, при рЭС возрастает запас медиатора, готового к выделению. Следовательно, можно полагать, что синаптические изменения, обусловленные ритмическим электрическим воздействием, по-видимому, могут создавать более благоприятные условия для генерации потенциала действия в мышечных волокнах [7]. Что касается других возможных физиологических процессов, определяющих облегчение/торможение мотонейронных пулов при рЭС копчикового сплетения, то вероятной причиной этому может быть активация спинальных интернейрональных тормозных сетей. На такую возможность указывают результаты исследования о влиянии ЧЭССМ на функциональную активность спинального торможения в системе мышц-антагонистов и синергистов голени у человека, которые показали, что в течение 20-минутной рЭС на уровне T_{11}-T_{12} позвонков выраженность реципрокного, нереципрокного, возвратного торможения снижалась, инвертируясь на их облегчение, а выраженность пресинаптического торможения, по сравнению с другими видами, была больше и не отличалась на всем протяжении электрического воздействия на спинной мозг [11, 13]. Таким образом, для понимания нейрофизиологических механизмов рЭС копчикового сплетения в перспективе дальнейших исследований необходимо более детально изучить ее

влияние на активность спинальных тормозных механизмов в системе мышц-антагонистов и агонистов у здоровых и лиц с двигательными расстройствами. В недавних исследованиях, проведенных K. Minassian с коллегами [16], также приводятся убедительные данные о том, что последействие 30-минутной ЧЭССМ временно восстанавливает пре- и постсинаптические тормозные сети спинного мозга мышц-антагонистов бедра и голени у пациентов со спастичностью.

Заключение. Методики регистрации ВМО нижних конечностей в ответ на умеренную одиночную электрическую стимуляцию копчикового сплетения в области Co_1-Co_2 и рЭС копчикового сплетения могут быть использованы в клинической и спортивной медицине, в фундаментальных исследованиях при изучении супраспинальных и сегментарных механизмов нейромодуляции тормозных интернейрональных сетей в обеспечении моторного контроля, а также в качестве одного из методов интраоперационного нейрофизиологического мониторинга у пациентов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Posterior root-muscle reflexes elicited by transcutaneous stimulation of the human lumbosacral cord / K. Minassian, I. Persy, F. Rattay [et al.] // Muscle and Nerve. – 2007. – Vol. 35, N 3. – P. 327–336. https://doi.org/10.1002/mus.20700

2. Modulation of multisegmental monosynaptic responses in a variety of leg muscles during walking and running in humans / G. Courtine, S. J. Harkema, C. J. Dy [et al.] // The Journal of Physiology. – 2007. – Vol. 582, N 3. – P. 1125–1139. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.128447

3. Minassian, K. The posterior root-muscle reflex / K. Minassian, B. Freundl, U. S. Hofstoetter // Neurophysiology in Neurosurgery: A Modern Approach / eds.: V. Deletis, J. L. Shils, F. Sala, K. Seidel. – 2nd ed. – London, 2020. – P. 239–253. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815000-9.00018-6

4. Advancing Intraoperative Neurophysiological Monitoring with Human Reflexes / J. Choi, A. Díaz-Baamonde, M. L. Á. Sánchez Roldán [et al.] // Journal of Clinical Neurology. – 2024. – Vol. 20, N 2. – P. 119–130. https://doi.org/10.3988/jcn.2023.0416

5. Transcutaneous Spinal Cord Stimulation and Motor Rehabilitation in Spinal Cord Injury: A Systematic Review / A. M. García, D. Serrano-Muñoz, J. Taylor [et al.] // Neurorehabilitation and Neural Repair. – 2020. – Vol. 34, N 1. – P. 3–12. https://doi.org/10.1177/1545968319893298

6. Noninvasive Reactivation of Motor Descending Control after Paralysis / Y. P. Gerasimenko, D. C. Lu, M. Modaber [et al.] // Journal of Neurotrauma. – 2015. – Vol. 32, N 24. – P. 1968–1980. https://doi.org/10.1089/neu.2015.4008

7. Барканов, М. Г. Особенности вызванных мышечных ответов и кинематических параметров скоростных локомоторных движений при чрескожной электрической стимуляции разных зон спинного мозга / М. Г. Барканов, Р. М. Городничев // Физиология человека. – 2022. – Т. 48, № 5. – С. 49–59.

8. Ланская, О. В. Физиологические механизмы функциональной пластичности спинальных систем двигательного контроля при занятиях спортом / О. В. Ланская, Е. Ю. Андриянова. – Великие Луки: Великолук. гос. акад. физ. культуры и спорта, 2013. – 231 с.

9. Моносинаптическое тестирование локомоторных мышц как дополнительный метод мониторирования нейромышечного статуса спортсменов / Е. А. Михайлова, А. А. Челноков, А. В. Лапченков, Ю. А. Поварещенкова // Лечебная физкультура и спортивная медицина. – 2010. № 10 (82). – С. 25–30.

10. Spinal maps of motoneuron activity during human locomotion: neuromechanical considerations / P. Avaltroni, G. Cappellini, F. Sylos-Labini [et al.] // Frontiers in Physiology. – 2024. – Vol. 15. – Art. e1389436. https://doi.org/10.3389/fphys.2024.1389436

11. Эффект чрескожной электрической стимуляции спинного мозга на функциональную активность спинального торможения в системе мышц-синергистов голени у человека / А. А. Челноков, Л. В. Рощина, Д. А. Гладченко [и др.] // Физиология человека. – 2022. – Т. 48, № 2. – С. 14–27.

12. P208. The effects of transcutaneous spinal cord stimulation on spinal reciprocal inhibition in healthy persons / T. Yamaguchi, T. Fujiwara, T. Takahara [et al.] // Clinical Neurophysiology. – 2017. – Vol. 128, N 3. – P. e115–e116. https://doi.org/10.1016/j.clinph.2016.10.326

13. Effect Of Transcutaneous Electrical Spinal Cord Stimulation On The Functional Activity Of Reciprocal And Presynaptic Inhibition In Healthy Subjects / D. A. Gladchenko, L. V. Roshchina, S. M. Bogdanov, A. A. Chelnokov // Russian Open Medical Journal. – 2022. – Vol. 11, N 3. – Art. e0302. https://doi.org/10.15275/rusomj.2022.0302

14. The effects of transcutaneous spinal cord stimulation delivered with and without high-frequency modulation on spinal and corticospinal excitability / S. Massey, D. Konig, P. Upadhyay [et al.] // Artificial Organs. – 2024. – Vol. 48, N 3. – P. 297–308. https://doi.org/10.1111/aor.14660

15. Optimizing Transcutaneous Spinal Stimulation: Excitability of Evoked Spinal Reflexes is Dependent on Electrode Montage / K. L. Thatcher, K. E. Nielsen, E. B. Sandler [et al.] // Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation. – 2025. – Vol. 22, N 1. – Art. 2. https://doi.org/10.1186/s12984-024-01524-5

16. Transcutaneous spinal cord stimulation neuromodulates pre- and postsynaptic inhibition in the control of spinal spasticity / K. Minassian, B. Freundl, P. Lackner, U. S. Hofstoetter // Cell Reports Medicine. – 2024. – Vol. 5, N 11. – Art. e101805. https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2024.101805

References

1. Minassian K., Persy I., Rattay F., Dimitrijevic M. R., Hofer C., Kern H. Posterior root-muscle reflexes elicited by transcutaneous stimulation of the human lumbosacral cord. *Muscle and Nerve*, 2007, vol. 35, no. 3, pp. 327–336. https://doi.org/10.1002/mus.20700

2. Courtine G., Harkema S. J., Dy C. J., Gerasimenko Y. P., Dyhre-Poulsen P. Modulation of multisegmental monosynaptic responses in a variety of leg muscles during walking and running in humans. *The Journal of Physiology*, 2007, vol. 582, no. 3, pp. 1125–1139. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.128447

3. Minassian K., Freundl B., Hofstoetter U. S. The posterior root-muscle reflex. *Neurophysiology in Neurosurgery*: *A Modern Approach. 2nd ed*. London, 2020, pp. 239–253. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815000-9.00018-6

4. Choi J., Díaz-Baamonde A., Sánchez Roldán M. L. Á., Pescador A. M., Kim J.-S., Téllez M. J., Park K. S, Deletis V. Advancing Intraoperative Neurophysiological Monitoring with Human Reflexes. *Journal of Clinical Neurology*, 2024, vol. 20, no. 2, pp. 119–130. https://doi.org/10.3988/jcn.2023.0416

5. García A. M., Serrano-Muñoz D., Taylor J., Avendaño-Coy J., Gómez-Soriano J. Transcutaneous Spinal Cord Stimulation and Motor Rehabilitation in Spinal Cord Injury: A Systematic Review. *Neurorehabil Neural Repair*, 2020, vol. 34, no. 1, pp. 3–12. https://doi.org/10.1177/1545968319893298

6. Gerasimenko Y. P., Lu D. C., Modaber M., Zdunowski S., Gad P., Sayenko D. G., Morikawa E., Haakana P., Ferguson A. R, Roy R. R., Edgerton V. R. Noninvasive Reactivation of Motor Descending Control after Paralysis. *Journal of Neurotrauma*, 2015, vol. 32, no. 24, pp. 1968–1980. https://doi.org/10.1089/neu.2015.4008

7. Barkanov M. G., Gorodnichev R. M. Peculiarities of Induced Muscle Responses and Kinematic Parameters of High-Speed Locomotor Movements under Percutaneous Electrical Stimulation of Different Spinal Cord Areas. *Human Physiology*, 2022, vol. 48, no. 5, pp. 526–534. https://doi.org/10.1134/S036211972204003X

8. Lanskaya O. V., Andriyanova E. Yu. *Physiological mechanisms of functional plasticity of spinal motor control systems during sports*. Velikiye Luki, Velikiye Luki State Academy of Physical Culture and Sports, 2013. 231 p. (in Russian).

9. Mikhailova E. A., Chelnokov A. A., Lapchenkov A. V., Povareshchenkova Yu. A. Monosynaptic testing of lokomotor muscles as an additional method to monitor neuromuscular status of athletes. *Lechebnaya fizkul'tura i sportivnaya meditsina* [Exercise therapy and Sports Medicine], 2010, vol. 10, no. 82, pp. 25–30 (in Russian).

10. Avaltroni P., Cappellini G., Sylos-Labini F., Ivanenko Y., Lacquaniti F. Spinal maps of motoneuron activity during human locomotion: neuromechanical considerations. *Frontiers in Physiology*, 2024, vol. 15, art. e1389436. https://doi.org/10.3389/fphys.2024.1389436

11. Chelnokov A. A., Roshchina L. V., Gladchenko D. A., Pivovarova E. A., Piskunov I. V., Gorodnichev R. M. The Effect of Transcutaneous Electrical Spinal Cord Stimulation on the Functional Activity of Spinal Inhibition in the System of Synergistic Muscles of the Lower Leg in Humans. *Human Physiology*, 2022, vol. 48, no. 2, pp. 121–133. https://doi.org/10.1134/S0362119722020037

12. Yamaguchi T., Fujiwara T., Takahara T., Takahashi Y., Mizuno K., Ushiba J., Masakado Y., Liu M. P208. The effects of transcutaneous spinal cord stimulation on spinal reciprocal inhibition in healthy persons. *Clinical Neurophysiology*, 2017, vol. 128, no. 3, pp. e115–e116. https://doi.org/10.1016/j.clinph.2016.10.326

13. Gladchenko D. A., Roshchina L. V., Bogdanov S. M., Chelnokov A. A. Effect of transcutaneous electrical spinal cord stimulation on the functional activity of reciprocal and presynaptic inhibition in healthy subjects. *Russian Open Medical Journal*, 2022, vol. 11, no. 3, art. e0302. https://doi.org/10.15275/rusomj.2022.0302

14. Massey S., Konig D., Upadhyay P., Evcil Z. B., Melin R., Fatima M., Hannah R., Duffell L. The effects of transcutaneous spinal cord stimulation delivered with and without high-frequency modulation on spinal and corticospinal excitability. *Artificial Organs*, 2024, vol. 48, no. 3, pp. 297–308. https://doi.org/10.1111/aor.14660

15. Thatcher K. L., Nielsen K. E., Sandler E. B., Daliet O. J., Iddings J. A., Field-Fote E. C. Optimizing Transcutaneous Spinal Stimulation: Excitability of Evoked Spinal Reflexes is Dependent on Electrode Montage. *Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation*, 2025, vol. 22, no. 1, art. 2. https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-4719031/v1

16. Minassian K., Freundl B., Lackner P., Hofstoetter U. S. Transcutaneous spinal cord stimulation neuromodulates pre- and postsynaptic inhibition in the control of spinal spasticity. *Cell Reports Medicine*, 2024, vol. 5, no. 11, art. 101805. https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2024.101805

Информация об авторах

Челноков Андрей Алексеевич – д-р биол. наук, профессор, заведующий кафедрой. Великолукская государственная академия физической культуры и спорта (пл. Юбилейная, 4, 182100, г. Великие Луки, Российская Федерация). E-mail: and-chelnokov@yandex.ru. https://orcid.org/0000-0003-0502-5752

Максим Геннадьевич Барканов – преподаватель кафедры. Великолукская государственная академия физической культуры и спорта (пл. Юбилейная, 4, 182100, г. Великие Луки, Российская Федерация). E-mail: barckanov.max@yandex.ru. https://orcid.org/0000-0003-2006-0863

Information about the authors

Andrey A. Chelnokov – D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Department. Velikiye Luki State Academy of Physical Culture and Sports (4, Yubileynaya Square, 182100, Velikiye Luki, Russian Federation). E-mail: and-chelnokov@yandex.ru. https://orcid.org/0000-0003-0502-5752

Maxim G. Barkanov – Lecturer of the Department. Velikiye Luki State Academy of Physical Culture and Sports (4, Yubileynaya Square, 182100, Velikiye Luki, Russian Federation). E-mail: barckanov.max@yandex.ru. https://orcid.org/0000-0003-2006-0863

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК: 57.083.324:612.112.94
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-1-77-88

Поступила в редакцию 18.08.2025
Received 18.08.2025

А. А. Жерносеченко, Ю. В. Савич, Т. В. Шман, Я. И. Исайкина

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

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА $CD4^+CD25^+FOXP3^+$ Т-ЛИМФОЦИТОВ И ИХ ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ РЕАКЦИИ «ТРАНСПЛАНТАТ ПРОТИВ ХОЗЯИНА» У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ АЛЛОГЕННОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Аннотация. Регуляторные Т-лимфоциты $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ (Treg) представляют собой особую субпопуляцию Т-хелперов, играющих центральную роль в поддержании иммунного гомеостаза. В работе мы проанализировали имеющиеся данные о $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ Treg. Нами суммирована основная информация о различных субпопуляциях Treg, механизмах их дифференцировки, иммуносупрессивных свойствах и возможности клинического применения при терапии реакции «трансплантат против хозяина». В настоящее время, благодаря значительному исследовательскому интересу, накоплена значительная база знаний о Treg и начаты клинические испытания их использования у пациентов с реакцией «трансплантат против хозяина».

Ключевые слова: Т-регуляторы, клеточная иммунотерапия, реакция «трансплантат против хозяина»

Для цитирования: Функциональные свойства $CD4^+CD25^+FOXP3^+$ Т-лимфоцитов и их значение для реакции «трансплантат против хозяина» у пациентов после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток / А. А. Жерносеченко, Ю. В. Савич, Т. В. Шман, Я. И. Исайкина // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2026. – Т. 23, № 1. – С. 77–88. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-1-77-88

Hanna A. Zhernasechanka, Juliya V. Savich, Tatsiana V. Shman, Yanina I. Isaikina

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

FUNCTIONAL PROPERTIES OF $CD4^+CD25^+FOXP3^+$ T-LYMPHOCYTES AND THEIR IMPORTANCE FOR GRAFT-VERSUS-HOST DISEASE IN PATIENTS AFTER ALLOGENEIC HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION

Abstract. $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ regulatory cells (Tregs) are a special lineage of cells central in the maintenance of immune homeostasis. In this review, we have analyzed the available data on $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ Tregs. We have summarized the basic information about the various subpopulations of Tregs, the mechanisms of their differentiation, their immunosuppressive properties and the possibility of clinical use in graft-versus-host disease. Now a significant knowledge base has been accumulated about Tregs and clinical trials of their use in patients with graft-versus-host disease have begun.

Keywords: T-regulators, cellular immunotherapy, graft-versus-host disease

For citation: Zhernasechanka H. A., Savich J. V., Shman T. V., Isaikina Y. I. Functional properties of $CD4^+CD25^+FOXP3^+$ T-lymphocytes and their importance for graft-versus-host disease in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2026, vol. 23, no. 1, pp. 77–88 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-1-77-88

Введение. В 1995 г. S. Sakaguchi с соавт. впервые идентифицировали в лимфатических узлах и селезенке мышей популяцию $CD4^+$ клеток, экспрессирующих высокие уровни α-цепи рецептора IL-2 (CD25). Эта идентифицированная популяция $CD4^+CD25^+$ Т-клеток продуцировала спектр цитокинов, отличных от Т-хелперов первого и второго типов (Th1 и Th2); супрессировала функции Th1 и Th2 типов, блокировала аутоиммунную патологию и обеспечивала доминантную иммунологическую толерантность к собственным антигенам. Это популяция клеток получила название Т-регуляторы (Treg, от англ. T regulatory cells). Было описано значительное количество поверхностных маркеров $CD4^+$ Treg, среди которых присутствовали CD5, CD25, CD62L, CD38, CD103, CTLA-4 (от англ. Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4), GITR (от англ. Glucocorticoid-induced TNFR-related protein), PD-1 (от англ. Programmed cell death protein 1)

и Swap70 (от англ. Switch-associated protein 70). Экспрессия CD25 оказалась наиболее постоянной и характерной для Treg. При развитии иммунного ответа на инфекцию на активированных Т-клетках (нерегуляторных) усиливается экспрессия CD25, поэтому этот кластер дифференцировки не может являться уникальным маркером Treg [1–3]. Дальнейшие исследования показали, что FoxP3 (от англ. Forkhead box P3) является идентифицированным специфическим маркером, экспрессируемым в Treg [3].

Субпопуляция $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ Treg через ко-ингибирующие сигналы (CTLA4 и PD-1) активно участвует в снижении уровня активации Т-клеток. Естественные периферические $CD4^+CD25^+$ Treg конститутивно экспрессируют FoxP3 в отличие от других Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов, натуральных киллеров [1]. Рецептор к IL-7 (CD127) является маркером, обратно коррелирующим с экспрессией FoxP3. Поэтому в литературе часто можно встретить обозначение Treg как $CD4^+CD25^+CD127^-$.

Treg поддерживают баланс и стабильность, обеспечивая функционирование иммунной системы в нормальных физиологических условиях. Дисбаланс активности или количества Treg может иметь серьезные последствия: чрезмерная активность или избыток Treg способны привести к иммунодефициту, хроническим инфекциям и раку, тогда как недостаточная активность или количество Treg могут вызывать аутоиммунитет, иммунопатологию и ослабление патогенспецифических иммунных реакций [4].

Treg составляют приблизительно 1 % от лимфоцитов периферической крови [5] и только 5–10 % – от $CD4^+$ Т-клеток [6]. Процент Treg в тканях отличается. Так, Treg тонкого и толстого кишечника, локализующиеся в собственной пластинке слизистой оболочки кишечника, составляют ~35 и ~25 % резидентных $CD4^+$ Т-клеток соответственно. При этом Treg наиболее многочисленны в толстой кишке, а наименьшее их количество обнаруживается в двенадцатиперстной кишке тонкого кишечника. Treg составляют в среднем 20 % резидентных $CD4^+$ Т-лимфоцитов кожи. В скелетных мышцах в состоянии покоя содержится 10 % Treg от $CD4^+$ Т-клеток. При патологии это количество может меняться. Так, при травме на 4-е сутки наблюдается быстрое накопление Treg в мышечной ткани – до 40–50 % от $CD4^+$ Т-клеток [7].

В последние годы активно изучаются механизмы участия Treg в реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ). Это тяжелейшее осложнение после аллогенной трансплантации органов или тканей, которое характеризуется тем, что иммунные клетки трансплантата распознают клетки реципиента как «чужеродные» и атакуют их. РТПХ возникает после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) (наиболее часто – костного мозга); после трансплантации солидных органов, богатых лимфоидными клетками (например, печени). Все пациенты, перенесшие трансплантацию гемопоэтических клеток, подвержены потенциальному риску развития РТПХ. Существует две формы РТПХ – острая и хроническая. Острая форма РТПХ диагностируется более чем у 50 % пациентов, перенесших ТГСК от HLA (от англ. Human Leukocyte Antigens)-совместимых доноров. РТПХ является причиной смертности после ТГСК более чем у 10 % пациентов [8].

Treg обладают иммуносупрессивной активностью, поэтому ожидается, что они будут оказывать противовоспалительное действие при РТПХ [9]. Согласно исследованиям донорские Treg могут не только ингибировать летальную РТПХ после аллогенной ТГСК, но также способствовать поддержке реакции «трансплантат против опухоли» (GVT, от англ. Graft-versus-tumor) [10, 11].

Целью работы явился анализ знаний о $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ Т-регуляторах и их роли в РТПХ, а также оценка возможности применения данной субпополяции Т-лимфоцитов в терапии осложнений аллогенной ТГСК.

Субпопуляции $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ Treg и их дифференцировка. На сегодняшний день описаны несколько субпопуляций $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ Treg. Наибольшее количество информации получено о естественных, происходящих из тимуса, Treg (tTreg) и периферических (или индуцированных) pTreg. Естественные Treg развиваются в тимусе, составляют 2–3 % от общего числа $CD4^+$ Т-лимфоцитов и являются самой большой субпопуляцией Treg [12, 13].

Популяции Treg называются «периферическими», если дифференцировка Treg произошла *in vivo* вне тимуса. Периферические Treg возникают преимущественно в местах воспаления и на границе с окружающей средой (например, в кишечнике). Субпопуляцию *in vitro* дифференциро-

ванных Treg называют индуцированными Treg (iTreg), они могут быть получены *in vitro* после стимуляции $CD4^+$ Т-лимфоцитов (например, трансформирующим фактором роста β – TGFβ, от англ. Transforming growth factor β) [12].

Т-клеточные рецепторы (TCR, от англ. T-cell receptor) естественных Treg в основном распознают собственные антигены. Treg периферического происхождения дифференцируются из наивных $CD4^+$ Т-клеток в Treg после распознавания чужеродного антигена [14]. Дифференцировать популяцию естественных Treg от периферических/индуцированных Treg можно с помощью анализа локусов, кодирующих FoxP3 [12].

Проведенные исследования показали, что такие маркеры Treg, как CD103, CTLA-4, GITR, PD-1 и Swap70 не могут быть использованы для различения tTreg и pTreg [2]. Для идентификации tTreg от pTreg были предложены фактор транскрипции Helios (относится к семейству транскрипционных факторов Ikaros) и мембранный белок нейропилин-1 (Nrp1) [14].

A. M. Thornton и соавт. показали, что Helios является маркером tTreg, они основывались на данных о том, что все Treg, возникающие из тимуса в первые недели жизни, экспрессируют Helios и, что наиболее важно, периферические Treg не экспрессирует Helios [15]. Продолжив свое исследование на моделях мышей, A. M. Thornton и соавт. отметили, что популяция $Helios^+$ Treg демонстрировала более высокую супрессивную способность *in vitro*, но была эквивалентна субпопуляции $Helios^-$ Treg по своей способности подавлять воспалительное заболевание кишечника *in vivo*. Обе популяции поддерживали экспрессию FoxP3, которая была менее стабильной у $Helios^-$ Treg. Анализ репертуара TCR показал очень небольшое совпадение между $Helios^+$ и $Helios^-$ Treg. Таким образом, субпопуляции $Helios^+$ и $Helios^-$ Treg фенотипически и функционально различны и экспрессируют разные репертуары TCR [16]. Согласно литературным данным 80–90 % Treg экспрессируют Helios [17].

В 2012 г. две группы исследователей сообщили, что нейропилин-1 (Nrp1), рецептор семафорина III, можно использовать в качестве маркера для клеток tTreg. Большинство tTreg экспрессируют Nrp1 на высоких уровнях, в то время как pTreg, генерируемые слизистой оболочкой, и другие невоспалительные pTreg экспрессируют низкие уровни Nrp1 [18, 19]. J. M. Weiss и соавт. обнаружили, что экспрессия Nrp1 находится под контролем TGFβ [18]. Для клеток человека Helios считается более стабильным маркером для различий tTreg от pTreg, чем Nrp1 [2].

По степени дифференцировки Treg подразделяют на наивные клетки ($CD45RA^+CCR7^+CD62L^+CTLA\text{-}4^-$), центральные клетки памяти ($CD45RA^-CCR7^+CD62L^+$) и эффекторные Treg ($CD45RA^-CCR7^-CD62L^-CTLA\text{-}4^+$), также выделяют эффекторные клетки памяти с фенотипом $CD4^+CD25^+FoxP3^{+/-}CD127^+CD45RA^-CCR7^-CD62L^-CTLA\text{-}4^+$. Молекулы CCR7 и CD62L обеспечивают хоминг Treg во вторичные лимфоидные органы, в то время как экспрессия CTLA-4 отражает супрессивную активность Treg [20].

В норме у молодых людей процент наивных Treg составляет около 30 %, но в дальнейшем, из-за инволюции тимуса, доля данных клеток уменьшается, уступая место Treg памяти [21].

Формирование популяции tTreg происходит путем селекции, опосредованной высокоавидным взаимодействием TCR с соответствующим лигандом [13]. В тимусе для нормального развития Treg необходимо достаточное количество IL-2 [22]. Treg на 3–4-й день неонатального периода перемещаются из тимуса в периферические лимфоидные органы, таким образом, начиная с раннего периода постнатального онтогенеза, они выполняют функцию сохранения иммунного гомеостаза [13]. После выхода из тимуса tTreg активируются во вторичных лимфоидных органах и далее дифференцируются в естественные Treg в ткани кишечника, получая IL-33 и сигналы окружающей среды от микробиоты и метаболитов. В кишечнике tTreg преимущественно экспрессируют Helios, GATA3, но не RORγt. Существует альтернативный путь развития tTreg. Дендритные клетки (DC) кишечника могут мигрировать в тимус и представлять антигены комменсальной микробиоты тимоцитам, чтобы дифференцировать их в tTreg. Эти tTreg содержат TCR, которые могут распознавать чужеродный антиген и мигрировать в кишечник, чтобы установить периферическую толерантность [14].

В кишечнике pTreg преимущественно экспрессируют RORγt, но не экспрессируют GATA3 и Helios. Эта субпопуляция $ROR\gamma t^+$ pTreg развивается из наивных $CD4^+$ Т-клеток, стимулирован-

ных чужеродными антигенами, представленными RORγt$^+$ антигенпрезентирующими клетками (APC), и далее активируется для приобретения свойств супрессивных эффекторных Treg [14]. Кроме DC в качестве APC могут выступать и другие популяции клеток. B. Akagbosu с соавт. описали особую субпопуляцию RORγt$^+$ APC, со свойствами медуллярных эпителиальных клеток тимуса и дендритных клеток, которая может стимулировать образование RORγt$^+$ pTreg [23].

Иммуносупрессивные механизмы Treg. Супрессорная активность tTreg обусловлена внутриклеточным фактором транскрипции FoxP3, индукция которого в наивных Т-лимфоцитах повышает экспрессию CD25 и других Treg-ассоциированных молекул клеточной поверхности, таких как CTLA-4 и GITR, а также подавляет продукцию IL-2, IFNγ и IL-4. Индукция FoxP3 контролируется различными сигнальными путями, включающими TCR, IL-2, STAT, Smad, TGFβ и Notch. Ретиноевая кислота (метаболит витамина А) также индуцирует *de novo* генерацию клеток FoxP3$^+$ Treg и способствует дифференцировке наивных Т-клеток в клетки FoxP3$^+$ Treg в присутствии TGFβ [22].

Естественные Treg оказывают супрессорную функцию не только на Т-лимфоциты, но и практически на все клетки-участники иммунного ответа, в частности, дендритные клетки, макрофаги, естественные киллеры, γδТ-клетки, В-лимфоциты, что обеспечивает поддержание периферической толерантности [13].

Современные представления об иммуносупрессии основываются на том, что в условиях нормы иммунная система эндогенно продуцирует субпопуляции Т-клеток, которые высокоспециализированы на супрессивных функциях. Как правило, при активации Treg (связывании TCR с соответствующим антигенным пептидом в комплексе с MHC) не пролиферируют и не продуцируют IL-2, но приобретают способность ингибировать пролиферацию и продукцию цитокинов Т-эффекторами, то есть проявляют супрессивные свойства. Но после активации Treg в присутствии очень высоких концентраций IL-2 при участии костимулирующей молекулы CD28 Treg проявляют способность к пролиферации. После активации через TCR Treg экспрессируют хемокиновый рецептор CCR7 [1].

Считается, что tTreg принимают участие в системном гомеостазе, контролируют толерантность к собственным антигенам (так как подавляют аутореактивные Т-лимфоциты), ограничивают количество активированных Т-клеток памяти. На tTreg экспрессированы паттерн-распознающие толл-подобные рецепторы (TLR, от англ. Toll-like receptor) – TLR-4, TLR-5, TLR-7 и TLR-8. Из-за присутствия TLR Treg могут активироваться через контакт с инфекционным агентом, который несет на своей поверхности соответствующий лиганд. Было показано, что естественные Treg могут пролиферировать после активации их TLR-лигандами микроорганизмов [13].

В настоящее время широко изучаются механизмы, с помощью которых Treg проявляют свои иммуносупрессивные свойства (рисунок). Для Treg характерно ингибирование активации Т-лимфоцитов посредством секреции противовоспалительных цитокинов, таких как IL-10, IL-35, TGFβ, galectin-1 и т. д. [2, 3, 10, 13, 22]. IL-10, который является ключевым иммунорегулятором при вирусных, бактериальных, грибковых, простейших и гельминтных инфекциях, ингибирует чрезмерный ответ CD4$^+$ Th1 и CD8$^+$ Т-клеток. Согласно результатам исследований Treg усиливают эфероцитоз макрофагами (механизм, который позволяет макрофагам удалять апоптозные тельца), что является критически важным эффекторным звеном исхода воспаления. Это достигается за счет передачи сигналов от IL-10, что приводит к повышению фагоцитарной активности и продукции CCL18, усилению экспрессии CD163 и подавлению HLA-DR в макрофагах М2, а также подавлению высвобождения TNFα и IL-6 [3].

Эффекторные функции естественных киллеров могут быть подавлены TGFβ, который преимущественно экспрессируется CD45RO$^+$ Treg памяти. Treg могут опосредовать индукцию макрофагов М2 цитокин-независимым и контактно-зависимым путями. Иммуносупрессивной характеристикой Treg является выделение растворимого рецептора II TNFα, который может нейтрализовать TNFα и таким образом предотвратить передачу провоспалительных сигналов [3].



Механизмы иммуносупрессивных свойств Treg

Mechanisms of Treg immunosuppressive properties

Treg модулируют созревание и функции APC, особенно DC, посредством взаимодействия CTLA-4 на Treg с его лигандом CD80/86 на APC [10, 13]. CTLA-4-зависимый механизм может представлять собой основу супрессии *in vivo* [22]. CTLA-4 – коингибиторный рецептор, который уменьшает пролиферацию аллоантиген-специфических эффекторных Т-клеток и снижает продукцию IFNγ эффекторными Т-клетками [3]. Активированные Treg могут стимулировать DC к экспрессии фермента индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO), который катаболизирует превращение незаменимой аминокислоты триптофана в кинуренин, который токсичен для Т-клеток, соседних с DC [2, 22]. Эти процессы зависят от молекул CTLA-4, экспрессируемых на поверхности клеток Treg. Активированные Treg также могут способствовать гибели APC [22]. Кроме того, Treg связывают комплексы MHC II (от англ. Major histocompatibility complex) плюс пептид (специфичные к их TCR) с поверхности APC, поглощают и разрушают их посредством трансэндоцитоза. Таким образом, Treg косвенно предотвращают активацию эффекторных Т-клеток, снижая способность APC презентировать специфические антигены [3, 13].

Treg индуцируют апоптоз Т-клеток посредством гранзима A/B и перфорина [2], пути Fas/Fas-лиганда [10, 13]. Контакт Treg с соответствующей клеткой-мишенью, например $CD8^+$ Т-клеткой, индуцирует апоптотические сигнальные пути посредством индукции оси Fas-FasL, что приводит к активации каспазного каскада, который инициирует апоптоз. Апоптоз также активируется через перфорин/гранзимный путь, используемый Treg для нацеливания и уничтожения $CD4^+$ и $CD8^+$ эффекторных Т-клеток, моноцитов, нейтрофилов и дендритных клеток, что сопровождается адгезией через CD18 [3].

Конститутивно высокая экспрессия CD25 является ключевой особенностью Treg. В Treg FoxP3 репрессирует транскрипцию IL-2 и активирует CD25, делая их сильно зависимыми от экзогенного IL-2 для их поддержания на периферии. Кроме того, IL-2 необходим для устойчивой экспрессии FoxP3 и CD25 в tTreg и усиливает их супрессивную функцию *in vitro.* Таким образом, развитие и поддержание Treg сильно зависят от IL-2, секретируемого другими субпопуляциями лимфоцитов [22]. Предполагается, что IL-2 и его передача сигналов через IL-2R (CD25) в основном необходимы для выживания Treg [22]. Высокая экспрессия CD25 на Treg способствует захвату IL-2, тем самым лишая эффекторные Т-клетки этого цитокина, что является важным механизмом, посредством которого опосредуется иммунная супрессия, так как IL-2 необходим для пролиферации и дифференцировки эффекторных Т-клеток [3, 13].

Treg мышей и человека экспрессируют очень высокий уровень CD39 и CD73 [24]. CD39 действует как иммунодепрессант в координации с мембраносвязанным гликопротеином CD73.

CD73 может быть коэкспрессирован на Treg или представлен на соседних клетках или экзосомах [3].

CD39 и CD73 – это эктонуклеотидазы, под действием которых АТФ (аденозинтрифосфат) в ходе ряда последовательных реакций гидролизуется до аденозина. АТФ и аденозин являются медиаторами, которые высвобождаются во внеклеточное пространство в ответ на различные, например, метаболические нарушения [25]. После высвобождения АТФ во внеклеточное пространство CD39 (эктонуклеозидтрифосфатдифосфогидролаза 1, E-NTPDase1) превращает АТФ в АМФ (аденозинмонофосфат), а затем CD73 (экто-5′-нуклеотидаза, Ecto5′NTase) дефосфорилирует АМР в аденозин [10, 24, 25]. Аденозин связывается с аденозиновым рецептором A2A, что приводит к ингибированию DC и Т-лимфоцитов [10]. Аденозинмонофосфат препятствует активации, пролиферации, синтезу цитокинов и цитотоксичности Т-клеток. АДФ и АТФ высвобождаются поврежденными или некротизированными клетками, вызывая провоспалительную передачу сигналов посредством активации пуринергического рецептора P2 [3]. Практически все иммунные клетки экспрессируют рецепторы P2 и P1, с которыми взаимодействуют АТФ и аденозин соответственно. Молекула АТФ в зависимости от концентрации может действовать или как иммуностимулятор, или как иммунодепрессант, в то время как аденозин функционирует только как иммуносупрессор [25].

Все вышеперечисленные механизмы иммуносупрессии направлены на снижение локальных и системных воспалительных реакций, которые сопровождают иммунный ответ, но в тоже время это может быть причиной снижения эффективности иммунного ответа на микроорганизм и развития хронической инфекции [13].

Механизмы участия Treg в РТПХ. Лучевая терапия или химиотерапия перед трансплантацией костного мозга являются причиной локальных повреждений тканей, что вызывает потерю целостности защитных барьеров и способствует развитию РТПХ [26].

Несколько субпопуляций Т-хелперов участвуют в патогенезе данного заболевания через продукцию цитокинов. Избыточная продукция цитокинов, таких как ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-17 и IFN-γ, дифференцированными Т-хелперами (Th1 и Th17) может привести к воспалительной реакции и повреждению ряда тканей (печени, кишечника) хозяина при РТПХ. Напротив, Th2 проявляют защитную функцию при РТПХ и ослабляют тяжесть РТПХ через механизм, опосредованный IL-4. Кроме того, иммуносупрессивная функция Treg играет ключевую роль в подавлении РТПХ [27].

Роль Treg на барьерных поверхностях, таких как кишечник, легкие и кожа, имеет решающее значение для поддержания гомеостаза тканей и восстановления нормальной функции после повреждения. Treg толстого кишечника относительно более изучены по сравнению с Treg кожи и легких. На сегодняшний день отмечена разница в соотношениях pTreg и tTreg между резидентными Treg в кишечнике и коже.

Большинство периферических Treg кишечника представляют собой RORγt^{+}Helios^{-} Treg, которые были индуцированы комменсальными микробами. Количество Treg в кишечнике взрослых людей увеличивается от тощей кишки к подвздошной кишке. Популяция Treg в толстой кишке сильно зависит от местной антигенной среды, а микроокружение сильно влияет на функцию и специфичность Treg [14]. Активация путей хемотаксиса направляет Treg к месту осуществления их иммуносупрессивной активности, например, высокая экспрессия CCR4 направляет Treg к зрелым дендритным клеткам, которые продуцируют соответствующие лиганды [28]. Treg с TCR, специфичными к антигенам, присутствующим только в отдельной ткани, демонстрируют тканеспецифический хоуминг-потенциал [3].

Популяции Treg могут регулировать и супрессировать иммунные ответы и минимизировать РТПХ через контактные и неконтактные механизмы, такие как цитолиз, секреция ингибирующих цитокинов, метаболические нарушения и влияние на DC [6, 29].

Взаимоотношения между Treg и DC выполняют важную и сложную функцию в контроле РТПХ. В дополнение к уничтожению реактивных Т-клеток через межклеточный контакт Treg могут действовать на несколько клеток-мишеней, особенно на DC. А также DC имеют более стабильную связь с Treg, с чем с Th, что предотвращает последующее взаимодействие между DC

и Th. DC реципиента или донора способствуют праймированию Т-клеток, представляя аллоантигены в составе молекул HLA и обеспечивая вторичные сигналы, способствующие полной активации Т-клеток. Treg конститутивно экспрессируют CTLA-4, аффинность которого к CD80/86, экспрессируемому на DC, выше, чем к CD28, что препятствует полной активации Т-клеток за счет блокирования связывания CD28 и CD80/86. Иммуносупрессивные цитокины, такие как IL-10, высвобождаемые Treg, могут препятствовать активации DC и презентации антигена. Treg могут препятствовать созреванию DC, делая их недостаточно активными в праймировании Т-клеток [6].

У пациентов с хронической РТПХ наблюдается снижение частоты Treg, при этом отмечена обратная корреляция между Treg и CD3+CD8+Т-лимфоцитами, что указывает на прямую физиологическую связь между Treg и цитотоксическими Т-лимфоцитами. Исследования, проведенные E. Zorn с соавт., предоставляют убедительные доказательства того, что хроническая РТПХ взаимосвязана со снижением количества Treg после аллогенной ТГСК, но не связана со снижением функции субпопуляции этих клеток [30]. Delia с соавт. отметили, что снижение количества Т-регуляторов, инфильтрирующих кожу, слизистую оболочку кишечника коррелирует с началом и тяжестью острой РТПХ [9]. При РТПХ происходит нарушение развития Treg из-за дисфункции тимопоэза и повышенной гибели этих клеток на периферии, что способствует развитию острой и хронической РТПХ [31, 32].

Количество инфильтрирующих $CD8^+$ Т-клеток в коже тесно коррелирует с тяжестью повреждения тканей вследствие РТПХ. Согласно E. Mavin с соавт. Treg ингибируют аллореактивную инфильтрацию $CD8^+$ Т-лимфоцитов в кожу, что приводит к уменьшению гистопатологического повреждения ткани. Этот эффект связан с подавлением экспрессии рецепторов хоминга CXCR3 и CLA (от англ. Cutaneous lymphocyte antigen) на $CD8^+$ Т-лимфоцитах, а также с нарушением продукции хемокинов CXCL10 и CXCL11. Таким образом, Treg подавляют адгезию и миграцию эффекторных Т-клеток [33].

Согласно F. Malard с соавт. количество циркулирующих Th17 увеличивается вскоре после аллогенной ТГСК у пациентов по мере развития острой РТПХ. В начале заболевания количество циркулирующих Th17 снижается в периферической крови, поскольку они мигрируют в ткани-мишени, где и запускают ее повреждение. Количество Th17 значительно увеличено в слизистой оболочке кишечника и коже пациентов с желудочно-кишечной или кожной РТПХ по сравнению с пациентами после ТГСК, у которых не развилась РТПХ [34].

Клетки Th17 и Treg тесно взаимосвязаны путями дифференцировки и ингибирования функций, так как имеют общий сигнальный путь, опосредованный TGF-β. Исследования показали, что в присутствии IL-6 или IL-21 (с TGF-β) наивные CD4+ Т-клетки дифференцируются в клетки Th17, но в отсутствие провоспалительных цитокинов наивные CD4+ Т-клетки дифференцируются в клетки Treg. Нарушение этого баланса приводит к развитию ряда аутоиммунных заболеваний, включая ВЗК (воспалительные заболевания кишечника) [35].

Хорошо известно, что клетки Th17 могут способствовать развитию РТПХ, при этом соотношение Th17/Treg выше у пациентов с РТПХ. Более того, в мононуклеарных клетках периферической крови пациентов с РТПХ количество клеток Th17 увеличивается, а количество клеток Treg снижается [27].

Клиническое применение Treg при РТПХ. Благодаря иммуносупрессивной терапии достигнуты определенные успехи в приживлении пересаженных органов, но длительное применение иммуносупрессивных препаратов сопровождается различными побочными эффектами (сердечно-сосудистые заболевания, нефротоксичность, онкологические заболевания, оппортунистические инфекции, метаболический синдром). Ввиду этого актуальным является применение клеточной иммунотерапии на основе Treg, которые способны стимулировать толерантность к пересаженным органам и тканям [36].

Использование донорских Treg является сложной задачей с точки зрения количества и чистоты необходимых клеток, а также их стабильности после инфузии реципиентам ТГСК. Текущие протоколы исследований основаны на пролиферации этих клеток *ex vivo* и (или) их инфузии в больших количествах [37].

Treg могут быть получены из периферической крови, пуповинной крови, тимуса или продукта лейкафереза [12]. Для достижения ответа организма на введение Treg количество клеток должно превышать физиологический уровень [3].

На сегодняшний день уже начаты клинические испытания по применению Treg при РТПХ.

P. Trzonkowski с соавт. впервые описали клинические эффекты у пациентов после введения *ex vivo* полученных $CD4^+CD25^+CD127^-$ Treg в количестве 1×10^5 Treg/кг. Авторами было отмечено снижение доз иммуносупрессивных препаратов после проведения клеточной терапии [38].

M. Soares с соавт. в исследовании фазы I ($n = 33$) сообщали о безопасности введения донорских $0{,}5–3 \times 10^6$ Treg/кг у пациентов с умеренной/тяжелой РТПХ. Значимые ответы наблюдались более чем у ⅔ пациентов. Авторы также отметили, что из-за низкой дозы Treg в периферии доноров для большинства пациентов потребовалось 2 забора продукта лейкафереза [39].

C. G. Brunstein с соавт. оценивали безопасность и клинические результаты у пациентов в возрасте 12–70 лет после инфузии Treg пуповинной крови. Пациенты с лимфогемопоэтическими злокачественными новообразованиями ($n = 11$) получили дозы $3–100 \times 10^6$ Treg/кг на день +1 после двойной ТГСК пуповинной крови. Средняя доля Treg в инфузионном продукте составила 87 % (78–95 %), и авторы не наблюдали дозолимитирующих нежелательных побочных реакций. Клинические ответы сравнивали с контрольной группой ($n = 22$). Частота II–IV степени острой РТПХ через 100 дней составила 9 % по сравнению с 45 % в контрольной группе. Хроническая РТПХ через 1 год была нулевой в группе с инфузией Treg и составляла 14 % в контрольной группе. Восстановление гемопоэза и химеризм, кумулятивная плотность инфекций, безрецидивная смертность, рецидивы и безрецидивная выживаемость были сходными у пациентов, получавших Treg, и в контрольной группе. Treg были безопасны и способствовали низкому риску развития острой формы РТПХ [40].

Заключение. Благодаря своим иммуносупрессивным свойствам Treg представляют значительный интерес в клеточной иммунотерапии. На основе полученной базы знаний на сегодняшний момент можно предположить, что инфузии Treg будут способствовать развитию толерантности к трансплантату, что позволит избежать длительного использования токсичных иммунодепрессантов. Это может послужить основой для определения новых терапевтических подходов для профилактики и терапии РТПХ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Фрейдлин, И. С. Регуляторные Т-клетки: происхождение и функции / И. С. Фрейдлин // Медицинская иммунология. – 2005. – Т. 7, № 4. – С. 347–354.

2. Concomitant analysis of Helios and Neuropilin-1 as a marker to detect thymic derived regulatory T cells in naïve mice / K. Singh, M. Hjort, L. Thorvaldson, S. Sandler // Scientific Reports. – 2015. – Vol. 5. – Art. 7767. https://doi.org/10.1038/srep07767

3. Clinical adoptive regulatory T Cell therapy: state of the art, challenges, and prospective / L. Amini, J. Kaeda, E. Fritsche [et al.] // Frontiers in Cell and Developmental Biology. – 2023. – Vol. 10. – Art. 1081644. https://doi.org/10.3389/fcell.2022.1081644

4. Regulatory T cells in homeostasis and disease: molecular mechanisms and therapeutic potential / L. Wang, Y. Liang, C. Zhao [et al.] // Signal Transduction and Targeted Therapy. – 2025. – Vol. 10, N 1. – Art. 345. https://doi.org/10.1038/s41392-025-02326-4

5. Mesenchymal stem cells transfer mitochondria to allogeneic Tregs in an HLA-dependent manner improving their immunosuppressive activity / K. Piekarska, Z. Urban-Wójciuk, M. Kurkowiak [et al.] // Nature Communications. – 2022. – Vol. 13, N 1. – Art. 856. https://doi.org/10.1038/s41467-022-28338-0

6. Regulatory T Cells in GVHD Therapy / W.-W. Guo, X.-H. Su, M.-Y. Wang [et al.] // Frontiers in Immunology. – 2021. – Vol. 12. – Art. 697854. https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.697854

7. Lui, P. P. Tissue regulatory T cells / P. P. Lui, I. Cho, N. Ali // Immunology. – 2020. – Vol. 161, N 1. – P. 4–17. https://doi.org/10.1111/imm.13208

8. Justiz Vaillant, A. A. Graft-versus-host disease / A. A. Justiz Vaillant, P. Modi; ed. O. Mohammadi // StatPearls. – URL: https://www.statpearls.com/point-of-care/22385 (date of access: 17.03.2025).

9. The Impact of Graft CD3 Cell/Regulatory T Cell Ratio on Acute Graft-versus-Host Disease and Post-Transplantation Outcome: A Prospective Multicenter Study of Patients with Acute Leukemia Undergoing Allogeneic Peripheral Blood Stem

Cell Transplantation / M. Delia, P. Carluccio, A. Mestice [et al.] // Transplantation and Cellular Therapy. – 2021. – Vol. 27, N 11. – P. 918.e1–918.e9. https://doi.org/10.1016/j.jtct.2021.08.008

10. Regulatory T cells in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: from the lab to the clinic / G. Gu, J.-Z. Yang, J.-Q. Zhang, L.-X. Sun // Cellular Immunology. – 2019. – Vol. 346. – Art. 103991. https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2019.103991

11. $CD4^+CD25^+$ regulatory T cells preserve graft-versus-tumor activity while inhibiting graft-versus-host disease after bone marrow transplantation / M. Edinger, P. Hoffmann, J. Ermann [et al.] // Nature Medicine. – 2003. – Vol. 9, N 9. – P. 1144–1150. https://doi.org/10.1038/nm915

12. Pandiyana, P. Origin and functions of pro-inflammatory cytokine producing $Foxp3^+$ regulatory T cells / P. Pandiyana, J. Zhu // Cytokine. – 2015. – Vol. 76, N 1. – P. 13–24. https://doi.org/10.1016/j.cyto.2015.07.005

13. Железникова, Г. Ф. Регуляторные Т-лимфоциты в иммунном ответе на инфекцию / Г. Ф. Железникова // Журнал инфектологии. – 2011. – Т. 3, № 1. – С. 6–13.

14. Cheru, N. Regulatory T cells in peripheral tissue tolerance and diseases / N. Cheru, D. A. Hafler, T. S. Sumida // Frontiers in Immunology. – 2023. – Vol. 14. – Art. 1154575. https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1154575

15. Expression of Helios, an Ikaros Transcription Factor Family Member, Differentiates Thymic-Derived from Peripherally Induced $Foxp3^+$ T Regulatory Cells / A. M. Thornton, P. E. Korty, D. Q. Tran [et al.] // Journal of Immunology. – 2010. – Vol. 184, N 7. – P. 3433–3441. https://doi.org/10.4049/jimmunol.0904028

16. $Helios^+$ and $Helios^-$ Treg subpopulations are phenotypically and functionally distinct and express dissimilar TCR repertoires / A. M. Thornton, J. Lu, P. E. Korty [et al.] // immuneACCESS. – 2019. – Vol. 49, N 3. – P. 398–412. https://doi.org/10.21417/amt2019eji

17. Co-expression of Foxp3 and Helios facilitates the identification of human T regulatory cells in health and disease / L. Morina, M. E. Jones, C. Oguz [et al.] // Frontiers in Immunology. – 2023. – Vol. 14. – Art. 1114780. https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1114780

18. Neuropilin 1 is expressed on thymus-derived natural regulatory T cells, but not mucosa-generated induced $Foxp3^+$ T reg cells / J. M. Weiss, A. M. Bilate, M. Gobert [et al.] // The Journal of Experimental Medicine. – 2012. – Vol. 209, N 10. – P. 1723–1742. https://doi.org/10.1084/jem.20120914

19. Neuropilin-1 distinguishes natural and inducible regulatory T cells among regulatory T cell subsets in vivo / M. Yadav, C. Louvet, D. Davini [et al.] // The Journal of Experimental Medicine. – 2012. – Vol. 209, N 10. – P. 1713–1722. https://doi.org/10.1084/jem.20120822

20. Shevyrev, D. Treg Heterogeneity, Function, and Homeostasis / D. Shevyrev, V. Tereshchenko // Frontiers in Immunology. – 2020. – Vol. 10. – Art. 3100. https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.03100

21. Immune modulation of inflammatory conditions: regulatory T cells for treatment of GvHD / D. Haase, M. Starke, K. J. Puan [et al.] // Immunologic Research. – 2012. – Vol. 53, N 1–3. – P. 200–212. https://doi.org/10.1007/s12026-012-8267-9

22. Ohkura, N. Regulatory T cells: roles of T cell receptor for their development and function / N. Ohkura, S. Sakaguchi // Seminars in Immunopathology. – 2010. – Vol. 32, N 2. – P. 95–106. https://doi.org/10.1007/s00281-010-0200-5

23. Novel antigen-presenting cell imparts Treg-dependent tolerance to gut microbiota / B. Akagbosu, Z. Tayyebi, G. Shibu [et al.] // Nature. – 2022. – Vol. 610, N 7933. – P. 752–760. https://doi.org/10.1038/s41586-022-05309-5

24. Susceptibility of aging mice to listeriosis: role of anti-inflammatory responses with enhanced Treg-cell expression of CD39/CD73 and Th-17 cells / M. S. Alam, C. Cavanaugh, M. Pereira [et al.] // International Journal of Medical Microbiology. – 2020. – Vol. 310, N 2. – Art. 151397. https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2020.151397

25. Экспрессия эктонуклеотидаз CD39 и CD73 в популяциях $CD4^+$ лимфоцитов у условно здоровых детей / Т. В. Радыгина, Д. Г. Купцова, С. В. Петричук [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2022. – Т. 25, № 3. – С. 283–290.

26. Hill, G. R. Cytokines and costimulation in acute graft-versus-host disease / G. R. Hill, M. Koyama // Blood. – 2020. – Vol. 136, N 4. – P. 418–428. https://doi.org/10.1182/blood.2019000952

27. GRIM19 ameliorates acute graft-versus-host disease (GVHD) by modulating Th17 and Treg cell balance through down-regulation of STAT3 and NF-AT activation / M. J. Park, S. H. Lee, S. H. Lee [et al.] // Journal of Translational Medicine. – 2016. – Vol. 14, N 1. – Art. 206. https://doi.org/10.1186/s12967-016-0963-0

28. Suppressive properties of human $CD4^+CD25^+$ regulatory T cells are dependent on CTLA-4 expression / B. Birebent, R. Lorho, H. Lechartier [et al.] // European Journal of Immunology. – 2004. – Vol. 34, N 12. – P. 3485–3496. https://doi.org/10.1002/eji.200324632

29. Graft-versus-Host Disease Modulation by Innate T Cells / Y. Fang, Y. Zhu, A. Kramer [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Vol. 24, N 4. – Art. 4084. https://doi.org/10.3390/ijms24044084

30. Reduced frequency of $FOXP3^+$ $CD4^+CD25^+$ regulatory T cells in patients with chronic graft-versus-host disease / E. Zorn, H. T. Kim, S. J. Lee [et al.] // Blood. – 2005. – Vol. 106, N 8. – P. 2903–2911. https://doi.org/10.1182/blood-2005-03-1257

31. Current Concepts and Advances in Graft-Versus-Host Disease Immunology / G. R. Hill, B. C. Betts, V. Tkachev [et al.] // Annual Review of Immunology. – 2021. – Vol. 39. – P. 19–49. https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-102119-073227

32. Hamilton, B. K. Updates in chronic graft-versus-host disease / B. K. Hamilton // Hematology. American Society of Hematology. Education Program. – 2021. – Vol. 2021, N 1. – P. 648–654. https://doi.org/10.1182/hematology.2021000301

33. Regulatory T Cells Inhibit $CD8^+$ T-Cell Tissue Invasion in Human Skin Graft-Versus-Host Reactions / E. Mavin, S. S. Ahmed, G. O'Boyle [et al.] // Transplantation. – 2012. – Vol. 94, N 5. – P. 456–464. https://doi.org/10.1097/tp.0b013e31826205d6

34. Translational opportunities for targeting the Th17 axis in acute graft-vs.-host disease / F. Malard, B. Gaugler, B. Lamarthee, M. Mohty // Mucosal Immunology. – 2016. – Vol. 9, N 2. – P. 299–308. https://doi.org/10.1038/mi.2015.143

35. The Function and Role of the Th17/Treg Cell Balance in Inflammatory Bowel Disease / J.-B. Yan, M.-M. Luo, Z.-Y. Chen, B.-H. He // Journal of Immunology Research. – 2020. – Vol. 2020. – Art. 813558. https://doi.org/10.1155/2020/8813558

36. Сенников, С. В. Клеточная Т-регуляторная терапия в трансплантологии: от получения до клинического применения / С. В. Сенников, Ю. Н Хантакова, Н. Ю. Кнауэр // Бюллетень сибирской медицины. – 2018. – Т. 17, № 1. – С. 199–210.

37. Exogenous TNFR2 activation protects from acute GvHD via host T reg cell expansion / M. Chopra, M. Biehl, T. Steinfatt [et al.] // The Journal of Experimental Medicine. – 2016. – Vol. 213, N 9. – P. 1881–1900. https://doi.org/10.1084/jem.20151563

38. First-in-man clinical results of the treatment of patients with graft versus host disease with human *ex vivo* expanded $CD4^+CD25^+CD127^-$ T regulatory cells / P. Trzonkowski, M. Bieniaszewska, J. Juścińska [et al.] // Clinical Immunology. – 2009. – Vol. 133, N 1. – P. 22–26. https://doi.org/10.1016/j.clim.2009.06.001

39. Phase I/II Clinical Trials of Donor-Derived Purified Regulatory T Cells for the Treatment of Steroid-Refractory Chronic Graft Versus Host Disease / M. V. D. Soares, V. E. Gomez, R. I. Azevedo [et al.] // Blood. – 2022. – Vol. 140, suppl. 1. – P. 880–882. https://doi.org/10.1182/blood-2022-163394

40. Umbilical cord blood-derived T regulatory cells to prevent GVHD: kinetics, toxicity profile, and clinical effect / C. G. Brunstein, J. S. Miller, D. H. McKenna [et al.] // Blood. – 2016. – Vol. 127, N 8. – P. 1044–1051. https://doi.org/10.1182/blood-2015-06-653667

References

1. Freidlin I. S. Regulatory T cells: origin and functions. *Meditsinskaya immunologiya* [*Medical immunology*], 2005, vol. 7, no. 4, pp. 347–354 (in Russian).

2. Singh K., Hjort M., Thorvaldson L., Sandler S. Concomitant analysis of Helios and Neuropilin-1 as a marker to detect thymic derived regulatory T cells in naïve mice. *Scientific Reports*, 2015, vol. 5, art. 7767. https://doi.org/10.1038/srep07767

3. Amini L., Kaeda J., Fritsche E., Roemhild A., Kaiser D., Reinke P. Clinical adoptive regulatory T Cell therapy: state of the art, challenges, and prospective. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2023, vol. 10, art. 1081644. https://doi.org/10.3389/fcell.2022.1081644

4. Wang L., Liang Y., Zhao C., Ma P., Zeng Sh., Ju D., Zhao M., Yu M., Shi Y. Regulatory T cells in homeostasis and disease: molecular mechanisms and therapeutic potential. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2025, vol. 10, no. 1, art. 345. https://doi.org/10.1038/s41392-025-02326-4

5. Piekarska K., Urban-Wójciuk Z., Kurkowiak M., Pelikant-Małecka I., Schumacher A., Sakowska J. [et al.]. Mesenchymal stem cells transfer mitochondria to allogeneic Tregs in an HLA-dependent manner improving their immunosuppressive activity. *Nature Communications*, 2022, vol. 13, no. 1, art. 856. https://doi.org/10.1038/s41467-022-28338-0

6. Guo W.-W., Su X.-H., Wang M.-Y., Han M.-Z., Feng X.-M., Jiang E.-L. Regulatory T Cells in GVHD Therapy. *Frontiers in Immunology*, 2021, vol. 12, art. 697854. https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.697854

7. Lui P. P., Cho I., Ali N. Tissue regulatory T cells. *Immunology*, 2020, vol. 161, no. 1, pp. 4–17. https://doi.org/10.1111/imm.13208

8. Justiz Vaillant A. A., Modi P. Graft-versus-host disease. *StatPearls*. Available at: https://www.statpearls.com/point-of-care/22385 (accessed 17.03.2025).

9. Delia M., Carluccio P., Mestice A., Chiusolo P., Metafuni E., Bellesi S. [et al.]. The Impact of Graft CD3 Cell/Regulatory T Cell Ratio on Acute Graft-versus-Host Disease and Post-Transplantation Outcome: A Prospective Multicenter Study of Patients with Acute Leukemia Undergoing Allogeneic Peripheral Blood Stem Cell Transplantation. *Transplantation and Cellular Therapy*, 2021, vol. 27, no. 11, pp. 918.e1–918.e9. https://doi.org/10.1016/j.jtct.2021.08.008

10. Gu G., Yang J.-Z., Zhang J.-Q., Sun L.-X. Regulatory T cells in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: from the lab to the clinic. *Cellular Immunology*, 2019, vol. 346, art. 103991. https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2019.103991

11. Edinger M., Hoffmann P., Ermann J., Drago K., Fathman C G., Strober S., Negrin R. S. $CD4^+CD25^+$ regulatory T cells preserve graft-versus-tumor activity while inhibiting graft-versus-host disease after bone marrow transplantation. *Nature Medicine*, 2003, vol. 9, no. 9, pp. 1144–1150. https://doi.org/10.1038/nm915

12. Pandiyana P., Zhu J. Origin and functions of pro-inflammatory cytokine producing Foxp3+ regulatory T cells. *Cytokine*, 2015, vol. 76, no. 1, pp. 13–24. https://doi.org/10.1016/j.cyto.2015.07.005

13. Zheleznikova G. F. Regulatory T lymphocytes in the immune response to infection. *Zhurnal infektologii* [Journal of Infectology], 2011, vol. 3, no. 1, pp. 6–13 (in Russian).

14. Cheru N., Hafler D. A., Sumida T. S. Regulatory T cells in peripheral tissue tolerance and diseases. *Frontiers in Immunology*, 2023, vol. 14, art. 1154575. https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1154575

15. Thornton A. M., Korty P. E., Tran D. Q., Wohlfert E. A., Murray P. E., Belkaid Y., Shevach E. M. Expression of Helios, an Ikaros Transcription Factor Family Member, Differentiates Thymic-Derived from Peripherally Induced $Foxp3^+$ T Regulatory Cells. *Journal of Immunology*, 2010, vol. 184, no. 7, pp. 3433–3441. https://doi.org/10.4049/jimmunol.0904028

16. Thornton A. M., Lu J., Korty P. E., Kim, Y. C., Martens C., Sun P. D., Shevach E. M. $Helios^+$ and $Helios^-$ Treg subpopulations are phenotypically and functionally distinct and express dissimilar TCR repertoires. *immuneACCESS*, 2019, vol. 49, no. 3, pp. 398–412. https://doi.org/10.21417/amt2019eji

17. Morina L., Jones M. E., Oguz C., Kaplan M. J., Gangaplara A., Fitzhugh C. D., Kanakry C. G., Shevach E. M., Buszko M. Co-expression of Foxp3 and Helios facilitates the identification of human T regulatory cells in health and disease. *Frontiers in Immunology*, 2023, vol. 14, art. 1114780. https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1114780

18. Weiss J. M., Bilate A. M., Gobert M., Ding Y., Curotto de Lafaille M. A., Parkhurst C. N. [et al.] Neuropilin 1 is expressed on thymus-derived natural regulatory T cells, but not mucosa-generated induced Foxp3$^+$ T reg cells. *The Journal of Experimental Medicine*, 2012, vol. 209, no. 10, pp. 1723–1742. https://doi.org/10.1084/jem.20120914

19. Yadav M., Louvet C., Davini D., Gardner J. M., Martinez-Llordella M., Bailey-Bucktrout S. [et al.]. Neuropilin-1 distinguishes natural and inducible regulatory T cells among regulatory T cell subsets *in vivo*. *The Journal of Experimental Medicine*, 2012, vol. 209, no. 10, pp. 1713–1722. https://doi.org/10.1084/jem.20120822

20. Shevyrev D., Tereshchenko V. Treg Heterogeneity, Function, and Homeostasis. *Frontiers in Immunology*, 2020, vol. 10, art. 3100. https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.03100

21. Haase D., Starke M., Puan K. J., Lai T. S., Rotzschke O. Immune modulation of inflammatory conditions: regulatory T cells for treatment of GvHD. *Immunologic Research*, 2012, vol. 53, no. 1–3, pp. 200–212. https://doi.org/10.1007/s12026-012-8267-9

22. Ohkura N., Sakaguchi S. Regulatory T cells: roles of T cell receptor for their development and function. *Seminars in Immunopathology*, 2010, vol. 32, no. 2, pp. 95–106. https://doi.org/10.1007/s00281-010-0200-5

23. Akagbosu B., Tayyebi Z., Shibu G., Paucar Iza Y. A., Deep D., Franco Parisotto Y. [et al.]. Novel antigen-presenting cell imparts Treg-dependent tolerance to gut microbiota. *Nature*, 2022, vol. 610, no. 7933, pp. 752–760. https://doi.org/10.1038/s41586-022-05309-5

24. Alam M. S., Cavanaugh C., Pereira M., Babu U., Williams K. Susceptibility of aging mice to listeriosis: role of anti-inflammatory responses with enhanced Treg-cell expression of CD39/CD73 and Th-17 cells. International Journal of Medical Microbiology, 2020, vol. 310, no. 2, art. 151397. https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2020.151397

25. Radygina T. V., Kuptsova D. G., Petrichuk S. V., Semikina E. L., Fisenko A. P. Expression of CD39 and CD73 ectonucleotidases in CD4$^+$ lymphocyte populations in healthy children. *Rossiiskii immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2022, vol. 25, no. 3, pp. 283–290 (in Russian).

26. Hill G. R., Koyama M. Cytokines and costimulation in acute graft-versus-host disease. *Blood*, 2020, vol. 136, no. 4, pp. 418–428. https://doi.org/10.1182/blood.2019000952

27. Park M. J., Lee S. H., Lee S. H., Kim E.-K., Lee E. J., Moon Y.-M., Cho M.- L. GRIM19 ameliorates acute graft-versus-host disease (GVHD) by modulating Th17 and Treg cell balance through down-regulation of STAT3 and NF-AT activation. *Journal of Translational Medicine*, 2016, vol. 14, no. 1, art. 206. https://doi.org/10.1186/s12967-016-0963-0

28. Birebent B., Lorho R., Lechartier H., de Guibert S., Alizadeh M., A. Beauplet N. Vu., Robillard N., Semana G. Suppressive properties of human CD4$^+$CD25$^+$ regulatory T cells are dependent on CTLA-4 expression. *European Journal of Immunology*, 2004, vol. 34, no. 12, pp. 3485–3496. https://doi.org/10.1002/eji.200324632

29. Fang Y., Zhu Y., Kramer A., Chen Y., Li Y.-R., Yang L. Graft-versus-Host Disease Modulation by Innate T Cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, vol. 24, no. 4, art. 4084. https://doi.org/10.3390/ijms24044084

30. Zorn E., Kim H. T., Lee S. J., Floyd B. H., Litsa D., Arumugarajah S., Bellucci R., Alyea E. P., Antin J. H., Soiffer R. J., Ritz J. Reduced frequency of FOXP3$^+$ CD4$^+$CD25$^+$ regulatory T cells in patients with chronic graft-versus-host disease. *Blood*, 2005, vol. 106, no. 8, pp. 2903–2911. https://doi.org/10.1182/blood-2005-03-1257

31. Hill G. R., Betts B. C., Tkachev V., Kean L. S., Blazar B. R. Current Concepts and Advances in Graft-Versus-Host Disease Immunology. *Annual Review of Immunology*, 2021, vol. 39, pp. 19–49. https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-102119-073227

32. Hamilton B. K. Updates in chronic graft-versus-host disease. *Hematology. American Society of Hematology. Education Program*, 2021, vol. 2021, no. 1, pp. 648–654. https://doi.org/10.1182/hematology.2021000301

33. Mavin E., Ahmed S. S., O'Boyle G., Turner B., Douglass S., Norden J., Collin M., Ali S., Dickinson A., Wang X.-N. Regulatory T Cells Inhibit CD8$^+$ T-Cell Tissue Invasion in Human Skin Graft-Versus-Host Reactions. *Transplantation*, 2012, vol. 94, no. 5, pp. 456–464. https://doi.org/10.1097/tp.0b013e31826205d6

34. Malard F., Gaugler B., Lamarthee B., Mohty M. Translational opportunities for targeting the Th17 axis in acute graft-vs.-host disease. *Mucosal Immunology*, 2016, vol. 9, no. 2, pp. 299–308. https://doi.org/10.1038/mi.2015.143

35. Yan J.-B., Luo M.-M., Chen Z.-Y., He B.-H. The Function and Role of the Th17/Treg Cell Balance in Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Immunology Research*, 2020, vol. 2020, art. 813558. https://doi.org/10.1155/2020/8813558

36. Sennikov S. V., Khantakova Yu. N., Knauer N. Yu. T-regulatory cells in transplantology: from preparation to clinical applications. *Byulleten' sibirskoi meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine*, 2018, vol. 17, no. 1, pp. 199–210 (in Russian).

37. Chopra M., Biehl M., Steinfatt T., Brandl A., Kums J., Amich J. [et al.]. Exogenous TNFR2 activation protects from acute GvHD via host T reg cell expansion. *The Journal of Experimental Medicine*, 2016, vol. 213, no. 9, pp. 1881–1900. https://doi.org/10.1084/jem.20151563

38. Trzonkowski P., Bieniaszewska M., Juścińska J., Dobyszuk A., Krzystyniak A., Marek N., Myśliwska J., Hellmann A. First-in-man clinical results of the treatment of patients with graft versus host disease with human *ex vivo* expanded CD4$^+$CD25$^+$CD127$^-$ T regulatory cells. *Clinical Immunology*, 2009, vol. 133, no. 1, pp. 22–26. https://doi.org/10.1016/j.clim.2009.06.001

39. Soares M. V. D., Gomez V. E., Azevedo R. I., Pereira P. N. G., Velázquez T. C., Garcia-Calderón C. B. [et al.]. Phase I/II Clinical Trials of Donor-Derived Purified Regulatory T Cells for the Treatment of Steroid-Refractory Chronic Graft Versus Host Disease. *Blood*, 2022, vol. 140, suppl. 1, pp. 880–882. https://doi.org/10.1182/blood-2022-163394

40. Brunstein C. G., Miller J. S., McKenna D. H., Hippen K. L., DeFor T. E., Sumstad D. [et al.] Umbilical cord blood-derived T regulatory cells to prevent GVHD: kinetics, toxicity profile, and clinical effect. *Blood*, 2016, vol. 127, no. 8, pp. 1044–1051. https://doi.org/10.1182/blood-2015-06-653667

Информация об авторах

Жерносеченко Анна Александровна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: sapphire.anna@gmail.com. https://orcid.org/0009-0006-9593-7067

Савич Юлия Валерьевна – науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: savich.juliya@yandex.ru. https://orcid.org/0009-0002-4713-4578

Шман Татьяна Викторовна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: shman@oncology.by. https://orcid.org/0000-0001-8669-8005

Исайкина Янина Ивановна – канд. биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: yaninai@mail.ru. https://orcid.org/0000-0001-5196-8554

Information about the authors

Hanna A. Zhernasechanka – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology, and Immunology (43, Frunzenskaya Str., 223053, Borovlyany v., Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: sapphire.anna@gmail.com. https://orcid.org/0009-0006-9593-7067

Juliya V. Savich – Researcher. Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology, and Immunology (43, Frunzenskaya Str., 223053, Borovlyany v., Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: savich.juliya@yandex.ru. https://orcid.org/0009-0002-4713-4578

Tatsiana V. Shman – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology, and Immunology (43, Frunzenskaya Str., 223053, Borovlyany v., Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: shman@oncology.by. https://orcid.org/0000-0001-8669-8005

Yanina I. Isaikina – Ph. D. (Biol.), Associate Professor, Head of the Laboratory. Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology, and Immunology (43, Frunzenskaya Str., 223053, Borovlyany v., Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: yaninai@mail.ru. https://orcid.org/0000-0001-5196-8554