ОАО «ИЗДАТЕЛЬСТВО "МЕДИЦИНА"»

ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ «НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО СПЕЦИАЛИСТОВ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ»

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

Russian Clinical Laboratory Diagnostics

Том 65
4 • 2020

ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

АПРЕЛЬ

Журнал основан в январе 1955 г.

Почтовый адрес
ОАО «Издательство"Медицина"»
115088, Москва, Новоостаповская ул., д. 5, строение 14

Телефон редакции:
8-495-430-03-63,
E-mail: clin.lab@yandex.ru

Зав. редакцией *Л.А. Шанкина*

Ответственность за достоверность информации, содержащейся в рекламных материалах, несут рекламодатели

Художественный редактор
Е.М. Архипова

Сдано в набор 20.03.2020.
Подписано в печать 5.04.2020.
Формат 60 × 88⅛.
Печать офсетная.
Печ. л. 8,00
Уч.-изд. л. 9,67.

E-mail: oao-meditsina@mail.ru
WWW страница: www.medlit.ru

ЛР N 010215 от 29.04.97 г.

Все права защищены. Ни одна часть этого издания не может быть занесена в память компьютера либо воспроизведена любым способом без предварительного письменного разрешения издателя.

Журнал представлен в базе данных Российского индекса научного цитирования (РИНЦ) и в следующих международных информационно-справочных изданиях: Abstracts of Micology, Adis International Ltd Reactions Weekly, Chemical Abstracts (Print), Chemical Titles, EBCOhost Biological Abstracts (Online), Elsevier BV EMBASE, Elsever BV Scopus, Excerpta Medica, Abstract Journals, Index Medicus, Index to Dental Literature, National Library of Medicine PubMed, OCLC Article First, OCLC MEDLINE, Reactions Weekly (Print), Thomson Reuters Biological Abstracts (Online), Thomson Reuters BIOSIS Previews, VINITI RAN Referativnyi Zhurnal, Ulrich's International Periodicals Directory.

Индекс 71442 — для подписчиков
Подписка через Интернет: wwwakc.ru, www-pressa-rf.ru
Подписка на электронную версию: elibrary.ru

ISSN 0869-2084. Клин. лаб. диагностика. 2020. № 4. 201–264.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор А.Ю. МИРОНОВ

А.Б. ДОБРОВОЛЬСКИЙ, В.В. ДОЛГОВ, Г.Н. ЗУБРИХИНА, А.А. ИВАНОВ, С.А. ЛУГОВСКАЯ, С.Г. МАРДАНЛЫ, В.Т. МОРОЗОВА, Л.М. СКУИНЬ, А.А. ТОТОЛЯН, Г.Г. ХАРСЕЕВА (ответственный секретарь), И.П. ШАБАЛОВА

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

А.Н. АРИПОВ (*Ташкент*), Т.В. ВАВИЛОВА (*Санкт-Петербург*), I. WATSON (*Великобритания, Ливерпуль*), А.Ж. ГИЛЬМАНОВ (*Уфа*), Д.А. ГРИЩЕНКО (*Красноярск*), В.С. ГУДУМАК (*Кишинёв*), Н.Г. ДАШКОВА (*Москва*), В.А. ДЕЕВ (*Киев*), Т.И. ДОЛГИХ (*Омск*), С.А. ЕЛЬЧАНИНОВА (*Барнаул*), А.В. ИНДУТНЫЙ (*Омск*), A. KALLNER (*Швеция, Стокгольм*), А.И. КАРПИЩЕНКО (*Санкт-Петербург*), К.П. КАШКИН (*Москва*), А.В. КОЗЛОВ (*Санкт-Петербург*), В.Г. КОЛБ (*Минск*), Г.В. КОРШУНОВ (*Саратов*), Г.М. КОСТИН (*Минск*), А.Г. КОЧЕТОВ (*Москва*), Н.Е. КУШЛИНСКИЙ (*Москва*), Г.Г. ЛУНЕВА (*Киев*), А.Р. МАВЗЮТОВ (*Уфа*), В.Н. МАЛАХОВ (*Москва*), Д.Д. МЕНЬШИКОВ (*Москва*), Е.Н. ОВАНЕСОВ (*Москва*), Ю.В. ПЕРВУШИН (*Ставрополь*), И.В. ПИКАЛОВ (*Новосибирск*), Ю.П. РЕЗНИКОВ (*Москва*), Д.Б. САПРЫГИН (*Москва*), С.Н. СУПЛОТОВ (*Тюмень*), О.А. ТАРАСЕНКО (*Москва*), И.С. ТАРТАКОВСКИЙ (*Москва*), А.Б. УТЕШЕВ *Алматы*), Л.А. ХОРОВСКАЯ (*Санкт-Петербург*), С.В. ЦВИРЕНКО (*Екатеринбург*), А.Н. ШИБАНОВ (*Москва*), В.Л. ЭМАНУЭЛЬ (*Санкт-Петербурге*), Г.А. ЯРОВАЯ (*Москва*)

«Издательство"МЕДИЦИНА"»

OAO IZDATEL'STVO "MEDITSINA"

THE ALL-RUSSIAN ORGANIZATION "THEORETICAL AND PRACTICAL SOCIETY OF SPECIALISTS OF LABORATORY MEDICINE"

Diagnostika KLINICHESKAYA LABORATORNAYA

Russian Clinical Laboratory Diagnostics

Volume 65
4 • 2020

SCIENTIFIC PRACTICAL MONTHLY JOURNAL

APRIL

The Journal is founded in 1955.

Mailing address:
Izdatelstvo "MEDITSINA"
115088, Moscow
Novoostapovskaya str., 5, building 14

Editorial office phone:
8-495-430-03-63,
E-mail: clin.lab@yandex.ru

Managing editor *L.A. Shankina*

The responsibility for credibility of information contained in advertising materials is accounted for advertisers

Art editor *E.M. Arkhipova*

E-mail: oao-meditsina@mail.ru
WWW page: www.medlit.ru

LR № 010215 of 29.04.1997

All rights reserved. Any part of this edition can not be entered computer memory nor be reproduced with any other mode without preliminary permition of editor in written form.

The Journal is presented in data base of the Russian index of scientific quotation (RiNZ) and in following I&R editions: Abstracts of Micology, Adis International Ltd Reactions Weekly, Chemical Abstracts (print), Chemical Titles, EBCOhost Biological Abstracts (Online), Elsevier BV EMBASE, Elsever BV Scopus, Excerpta Medica, Abstract Journals, Index Medicus, Index to Dental Literature, National Library of Medicine PubMed, OCLC Article First, OCLC MEDLINE, Reactions Weekly (Print), Thomson Reuters Biological Abstracts (Online), Thomson Reuters BIOSIS Previews, VINITI RAN Referativnyi Zhurnal, Ulrich's International Periodicals Directory.

ISSN 0869-2084.

EDITOR BOARD:

Editor-in-Chief A.Yu MIRONOV

A.B. DOBROVOLSKYI, V.V. DOLGOV, G.N. ZUBRIKHINA, A.A. IVANOV, S.A. LUGOVSKAYA, S.G. MARDANLY, V.T. MOROZOVA, L.M. SKUIN', A.A. TOTOLYAN, G.G. KHARSEEVA (executive editor), I.P. SHABALOVA

EDITORIAL COUNCIL:

A.N. ARIPOV (*Tashkent*), T.V. VAVILOVA (*Sankt-Peterburg*), I. WATSON (*Great Britain, Liverpool*), A.Zh. GIL'MANOV (*Ufa*), D.A. GRITCHENKO (*Krasnoyarsk*), V.S. GUDUMAK (*Kishinev*), N.G. DASHKOVA (*Moscow*), V.A. DEEV (*Kiev*), T.I. DOLGIKH (*Omsk*), S.A. ELCHANINOVA (*Barnaul*), A.V. INDUTNY (*Omsk*), V.A. KALLNER (*Sweden, Stockholm*), A.I. KARPITCHENKO (*Sankt-Peterburg*), K.P. KASHKIN (*Moscow*), A.V. KOZLOV (*Sankt-Peterburg*), V.G. KOLB (*Minsk*), G.V. KORSHUNOV (*Saratov*), G.M. KOSTIN (*Minsk*), A.G. KOCHETOV (*Moscow*), N.E. KUSHLINSKII (*Moscow*), G.G. LUNEVA (*Kiev*), A.R. MAVZYTOV (*Ufa*), V.N. MALACHOV (*Moscow*), D.D. MEN'SHIKOV (*Moscow*), E.N. OVANESOV (*Moscow*), Yu.V. PERVUCHIN (*Stavropol'*), I.V. PICALOV (*Novosibirsk*), Yu.P. REZNICOV (*Moscow*), D.B. SAPRIGIN (*Moscow*), S.N. SUPLOTOV (*Tyumen'*), O.A. TARASENKO (*Moscow*), I.S. TARTAKOVSKYI (*Moscow*), A.B. UTESHEV (*Almati*), L.A. KHOROVSKAYA (*Sankt-Peterburg*), S.V. TSVIRENKO (*Ekaterinburg*), A.N. SHIBANOV (*Moscow*), V.L. EMANUEL' (*Sankt-Peterburg*), G.A. YAROVAYA (*Moscow*)

IZDATEL'STVO "MEDITSINA"

СОДЕРЖАНИЕ

БИОХИМИЯ

Корноухова Л.А., Эмануэль В.Л., Денисов Н.Л.
Роль жировой ткани и лабораторные предикторы развития первичного остеопороза 205

Янушевич О.О., Духовская Н. Е., Островская И.Г., Вавилова Т. П., Ахмедов Г.Д., Духовская А.А.
Исследование активности холинэстеразы в смешанной слюне пациентов с соматической патологией 212

ГЕМАТОЛОГИЯ

Гильмиярова Ф.Н., Колотьева Н.А., Кузьмичева В.И., Гусякова О.А., Бородина И.А., Баишева Г.М., Селезнева И.А.
Группы крови и болезни человека (обзор литературы) 216

Чепурная А.Н., Сафуанова Г.Ш., Никуличева В.И., Лехмус Т.Ю., Рахматуллина А.Р.
Эритроцитозы у больных дилатационной и ишемической кардиомиопатией 222

ЦИТОЛОГИЯ

Славнова Е.Н., Сарибекян Э.К., Суркова В.С., Ортабаева Д.Р., Горюшкина О.Б., Петров А.Н.
Комплексная морфологическая (цитологическая, гистологическая) диагностика десмоидной фибромы, ассоциированной с имплантатом молочной железы (случай из практики) 228

ИММУНОЛОГИЯ

Лахтин М. В., Лахтин В. М., Миронов А. Ю., Алёшкин В. А., Афанасьев С. С.
Лектиновые суперсистемы человека с пробиотическим и защитным действием 231

Тепленький М.П. , Чепелева М.В. , Кузнецова Е.И.
Болезнь Пертеса: иммунологические аспекты 239

МИКРОБИОЛОГИЯ

Детушева Е. В., Фурсова Н. К., Коровкин С. А.
Антимикробная активность диоксидина и диоксидин-содержащего препарата «Носолин-ультра, капли назальные» 244

Сужаева Л.В. , Макарова М.А. , Кафтырева Л.А.
Филогенетические группы и гены вирулентности штаммов *Escherichia coli*, выделенных из микробиоты кишечника детей 251

КЛИНИЧЕСКИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Столяр М.А., Горбенко А.С., Бахтина В.И., Мартынова Е.В., Москов В.И., Михалёв М.А., Ольховик Т.И., Хазиева А.С., Ольховский И.А.
Исследование уровня микроРНК miR-155 в крови пациентов с хроническим лимфолейкозом и Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями 258

© ОАО «Издательство "Медицина"», 2020

CONTENTS

BIOCHEMISTRY

Kornoukhova L. A., Emanuel V. L. , Denisov N. L.
The role of adipose tissue and laboratory predictors of primary osteoporosis 205

Yanushevish O.O., Dukhovskaya H.E., Ostrovskaya I.G., Vavilova T.P., Akhmedov G.D., Dukhovskaya A.A.
Study of cholinesterase activity in mixed saliva of patients with somatic pathology 212

HEMATOLOGY

Gilmiyarova F.N. , Kolotyeva N.A., Kuzmicheva V.I., Gusyakova O.A., Borodina I.A. , Baisheva G.M., Selezneva I.A.
Blood group and human diseases (review of literature) 216

Chepurnaya A.N., Safuanova G.Sh., Nikulicheva V.I., Lekhmus T.Y. , Rakhmatullina A.R.
Erythrocytoses in patients with dilated and ishaemic cardiomyopathy 222

CYTOLOGY

Slavnova E.N., Saribekyan E.K., Surkova V.S., Ortabaeva D.R., Goryushkina O.B., Petrov A.N.
Complex morphological (cytological, histological) diagnostics of desmoid fibroma associated with a breast implant (case report from practice) 228

IMMUNOLOGY

Lakhtin M. V., Lakhtin V. M., Mironov A. Yu., Aleshkin V. A., Afanasiev S. S.
The human lectin supersystems possessing probiotic and protective actions 231

Teplen'kiy M.P. , Chepeleva M.V. , Kuznetsova E.I.
Perthes disease: immunological aspects 239

MICROBIOLOGY

Detysheva E. V., Fursova N. K., Korovkin S. A.
Antimicrobial activity of dioxidine and dioxidine-containing medicine «Nosolin-Ultra, nasal drops» 244

Suzhaeva L.V., Makarova M.A., Kaftyreva L.A.
Phylogenetic groups and virulence genes of *Escherichia coli* strains isolated from the children gut microbiota 251

CLINICAL MOLECULAR STUDIES

Stolyar M.A., Gorbenko A.S., Bakhtina V.I., Martynova E.V., Moskov V.I., Mikhalev M.A., Olkhovik T.I., Hazieva A.S., Olkhovskiy I.A.
Investigation of miR-155 level in the blood of patients with chronic lymphocytic leukemia and Ph-negative myeloproliferative neoplasms 258

DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-205-211

БИОХИМИЯ

©КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Корноухова Л.А.[1, 2], Эмануэль В.Л.[2], Денисов Н.Л.[3]

РОЛЬ ЖИРОВОЙ ТКАНИ И ЛАБОРАТОРНЫЕ ПРЕДИКТОРЫ РАЗВИТИЯ ПЕРВИЧНОГО ОСТЕОПОРОЗА

[1]АО «Северо-Западный центр доказательной медицины», 196158, Санкт-Петербург, Россия;
[2]ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава РФ, 197022, Санкт-Петербург, Россия;
[3]Клиника высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова Санкт-Петербургского государственного университета, 190103, Санкт-Петербург, Россия

Целью настоящей работы стало определение информативности щелочной фосфатазы (ЩФ), общего кальция ($Ca_{общ}$) в качестве предикторов для диагностики остеопороза. Лабораторными методами 2451 человек распределены в две группы по наличию/отсутствию метаболического синдрома (МС+/МС-): 1946 женщин (МС – 1119, МС+ 827) и 505 мужчин (МС – 264, МС+ 241). Исключены пациенты с лабораторными признаками патологии печени. У женщин: МС+ уровни ЩФ и $Ca_{общ}$ значимо отличаются от МС- ($p< 0,0001$), для мужчин различий не выявлено. С ЩФ синхронно изменяются показатели ТГ, ХсЛПВп, ХсЛПНП, АЛТ, АСТ, $Ca_{общ}$, демонстрирующие достоверную связь ($p< 0,001$), показатели не превышают пороговых значений. МС – женщины в пре- и постменопаузе достоверно различаются по ЩФ: 63,90 Е/л vs 79,10 Е/л ($p <0,0001$).

Ключевые слова: *остеопороз; висцеральная жировая ткань; метаболический синдром; щелочная фосфатаза; общий кальций.*

Для цитирования: *Корноухова Л.А., Эмануэль В.Л., Денисов Н.Л.Роль жировой ткани и лабораторные предикторы развития первичного остеопороза. Клиническая лабораторная диагностика. 2020; 65 (4): 205-211. DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-205-211*

Kornoukhova L.A.[1, 2], Emanuel V.L.[2], Denisov N.L.[3]

THE ROLE OF ADIPOSE TISSUE AND LABORATORY PREDICTORS OF PRIMARY OSTEOPOROSIS

[1]North-Western Centre of Evidence-based Medicine Co.;
[2]Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Academician I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation;
[3]N.I. Pirogov Clinic for Advanced Medical Technologies, Saint Petersburg University

The purpose of this work was to determine the information content of alkaline phosphatase (ALP), total calcium (Ca) as predictors for the diagnosis of osteoporosis. By laboratory methods, 2451 people were divided into two groups according to the presence/absence of metabolic syndrome (MetS+ / MetS-): 1946 women (MetS- 1119, MetS+ 827) and 505 men (MetS– 264, MetS+ 241). Patients with laboratory signs of liver pathology are excluded.
In women: MetS+ levels of ALP and Ca significantly differ from MetS- ($p< 0.0001$), no differences were found for men. ALP synchronously change the indicators of TG, HDL, LDL, ALT, AST, Ca, demonstrating a positive relationship ($p< 0.001$), the indicators do not exceed the threshold values. MetS- women in pre- and postmenopausal women significantly differ in ALP: 63.90 E / l vs 79.10 E / l ($p <0.0001$).

Keywords: *osteoporosis; visceral adipose tissue; the metabolic syndrome; alkaline phosphatase; total calcium.*

For citation: *Kornoukhova L. A., Emanuel V. L., Denisov N. L.The role of adipose tissue and laboratory predictors of primary osteoporosis. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2020; 65(4): 205-211 (in Russ.). DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-205-211*

For correspondence: *Kornoukhova L.A.,* Director for laboratory diagnostics of NWCoEBM JSC; assistant of the Department of clinical laboratory diagnostics with the course of molecular medicine; e-mail: kornouchova@mail.ru

Information about authors:

Kornoukhova L.A., https://orcid.org/0000-0002-3840-1032.

Emanuel V.L., https://orcid.org/0000-0002-2079-0439

Conflict of interests. *The authors declare the absence of conflict of interests.*

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 04.02.2020
Accepted 17.02.2020

Для корреспонденции: *Корноухова Любовь Александровна*, зам.ген. дир-ра по лаб. диагностике АО «СЗЦДМ»; ассистент каф. клин. лаб. диагностики с курсом мол. медицины; e-mail: kornouchova@mail.ru

Сегодня значимым направлением развития клинической лабораторной диагностики является разработка лабораторных предикторов и методов ранней неинвазивной диагностики заболеваний.

Ожирение и остеопороз являются двумя наиболее важными заболеваниями, тесно связанными с увеличением распространенности как смертности, так и заболеваемости во всем мире [1, 2]. Устойчиво мнение о защитной роли ожирения при остеопорозе [3], но последние данные свидетельствуют о том, что ожирение и, следовательно, жировая масса могут оказаться факторами риска снижения плотности костной ткани и переломов [4].

Остеопороз можно определить как скелетное расстройство, характеризующееся снижением прочности костей, что приводит к повышенному риску перелома. Прочность кости отражает интеграцию двух основных характеристик: плотности кости и качества кости. Остеопороз является наиболее распространенной основной причиной переломов [5].

Для того чтобы лучше понять связь между костью и жировой тканью, важно правильно интерпретировать результаты, представленные в литературе. Так, большинство данных подтверждают то, что жировая ткань оказывает независимое влияние на костное ремоделирование. Механизм реализуется через механическую нагрузку, которая стимулирует образование костной ткани, конверсию андрогенов в эстрогены в жировой ткани, снижение сывороточного уровня глобулина, связывающего половые гормоны (SHBG), повышение сывороточного уровня лептина, повышение продукции инсулинового фактора роста и гиперинсулинемию, что приводит к увеличению костной массы. Однако, высокая механическая нагрузка и низкая физическая подвижность увеличивает риск переломов [6].

Патофизиологические основы ассоциированной с ожирением потери костной массы изучены недостаточно. Липиды и липопротеины являются важными регуляторами физиологических характеристик скелета и, ингибируя остеобласт, повышают дифференцировку остеокластов. Учитывая, что остеобласты и адипоциты происходят от общей мезенхимальной стволовой клетки, изменение активности регуляторных путей может параллельно приводить не только к подавлению остеобластов и уменьшению костной массы через возрастное накопление жира в костном мозге, но и к аналогичной активности жировой ткани у лиц с ожирением, что позволяет предположить ее вовлечение в снижение костеобразования [6].

В настоящее время наиболее точными методами оценки ожирения, строго коррелирующими с общим объемом жировой клетчатки, являются компьютерная (КТ) и магнитно-резонансная томография (МРТ) с расчетом жировой ткани на уровне 3-5 поясничных позвонков [7]. Клинические антропометрические показатели легко получить, они предлагают возможность диагностики в первичном звене и не имеют неудобств. Вместе с тем оценка массы тела, окружности талии, индекса массы тела Кетле (ИМТ) неоднозначно выявляют метаболические расстройства и остеопороз, так как не учитывают расположение и распределение абдоминальной жировой ткани: висцеральное, подкожное, эктопическое (в печени, костном мозге, мышцах) [6, 8, 9]. Последние данные свидетельствуют о том, что висцеральная и костномозговая жировая ткань ассоциированы с более низкой минеральной плотностью костной ткани (МПКТ), большей кортикальной пористостью, более низкой скоростью образования костной ткани и более низким объемом костной трабекулы и жесткостью [6]. В отличие от этого, подкожная жировая ткань, как представляется, является защитной или нейтральной в отношении здоровья костей.

В исследовании M.A. Bredella et al. [10] для здоровых молодых мужчин и женщин с ожирением показана корреляция между МПКТ и липидами скелетных мышц, печени и костного мозга, оцененными с помощью ^{1}H-магнитно-резонансной спектроскопии (^{1}H-МРС), триглицеридами (ТГ) крови, продемонстрировано, что уровень ХсЛПВП обратно связан с содержанием жира в костном мозге. Это позволило авторам предположить, что эктопический и сывороточные уровни липидов зависят от тех же факторов, что и костный мозг, и могут быть потенциально вредными для здоровья костей. В другом исследовании этими же авторами показано, что трабекулярная МПКТ при компьютерной томографии обратно связана с возрастом и висцеральной жировой тканью (ВЖТ, p<0,001), в то время как не выявлено достоверных ассоциаций между МПКТ и абдоминальным подкожным жиром или ИМТ (p=0,1), 25- гидроксивитамином D (25OHD), эстрадиолом, тестостероном или глобулином, связывающим половые гормоны (p= 0,3-0,8) [11].

Высокий уровень выявления людей с ожирением поддерживает потребность в постоянной актуализации знаний, изучении проблемы с помощью новых технологий, что позволяет получать новые, статистически достоверные результаты. Предложены для практического применения разнообразные скрининговые коэффициенты для оценки висцерального ожирения, отражающих наличие факторов риска и метаболических нарушений.

Оценивается применение расчетных параметров, например, индекса висцерального ожирения (англ. Visceral Adiposity Index, VAI) как маркера дисфункции жировой ткани [12]. Индекс VAI получен по формулам, предложенным M.C.Amato и соавт. [12], с использованием антропометрических (пол, окружность талии, ИМТ) и лабораторных (ТГ, ХсЛПВП) показателей, показывает сильную корреляцию с висцеральной жировой массой, определенной методами МРТ.

Коэффициент накопления продуктов липидов (англ. Lipid Accumulation Product, LAP) по формулам H. Kahn и соавт. [13] – относительно новый маркер для измерения риска сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) с использованием уровня ТГ и антропометрических данных (пол, окружность талии).

Предложена модель прогнозирования выраженной жировой дистрофии печени для ранней диагностики жировой дегенерации печени (ЖДП) с поражением более 32% гепатоцитов на основе расчетного индекса «Предиктор СП32», сравнимого по чувствитель-

DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-205-211

ности и специфичности с инструментально – диагностическими методами первой линии диагностики, включающая использование независимых переменных: коэффициента LAP (p = 0,0096), уровней АЛТ (p = 0,0024), глюкозы крови натощак (p = 0,0104) и ХсЛПВП (p = 0,0463) [14].

Данные последних исследований позволяют переосмыслить схемы патогенеза ожирения и по-новому оценить роль лабораторных предикторов и маркеров патологических состояний. Наряду с глубоким изучением механизмов развития метаболического синдрома (МС), диабета 2 типа, атеросклероза, остаются недостаточно освещенными другие возможные клинико-лабораторные синдромы, в частности остеопороз.

Цель исследования: определить информативность щелочной фосфатазы общей (ЩФ), общего кальция ($Ca_{общ}$) в качестве предикторов для диагностики остеопороза.

Материал и методы. Проведен ретроспективный анализ базы данных медицинской документации МИС «Эконбол 3» с результатами обследований, полученными в ходе обращений в АО «Северо-Западный центр доказательной медицины». Изучены показатели 5800 пациентов, отобранные из 80 000 записей, имеющих сочетание исследований ЩФ и $Ca_{общ}$, 42% (2442 человека) из которых обращались в динамике. Проанализированы данные пациентов, соответствующих первичным критериям отбора: проведение комплекса лабораторных исследований, включающего следующие показатели – ЩФ, аланин-аминотрасфераза (АЛТ), аспартат-аминотрасфераза (АСТ), общий билирубин (ОБ), глюкоза крови натощак (ГЛ), триглицериды (ТГ), холестерин липопротеинов высокой плотности (ХсЛПВП) и низкой плотности (ХсЛПНП), $Ca_{общ}$; некоторые показатели определены частично (гамма- глютамилтрансфераза (ГГТ), кальций ионизированный ($Ca_{ион}$), остеокальцин, паратгормон, витамин Д- 25 ОН). Все лабораторные исследования проведены на базе лаборатории АО «Северо-Западный центр доказательной медицины».

В исследование не включались пациенты с минимальными лабораторными признаками патологии печени и желчевыводящих путей (любое превышение референсного интервала АСТ, АЛТ, ОБ, ГГТ). Также исключены лица с превышением уровня ЩФ > 250 Е/л.

Для выбора точек отсечения компонентов метаболического синдрома изучены требования нескольких документов [15, 16]. Дополнительные факторы метаболического риска (МФР) определены по критериям метаболического синдрома AHA/IDF/NHLBI/IAS/WHF/IASO (2009, [16]), позволяющим учитывать наличие МС без учета клинических данных (информации об окружности талии, уровне артериального давления), по лабораторным показателям следующим образом: ТГ ≥ 1,7 ммоль/л, $ХсЛПВП_{муж.}$ < 1,0 ммоль/л и $ХсЛПВП_{жен.}$ < 1,3 ммоль/л, , уровень глюкозы натощак ≥5,6 ммоль/л. Пациенты с менее трех МФР считались метаболически «здоровыми» (МС-), с тремя МФР определялись как метаболически нездоровые (МС+). Учитывая, что мы использовали только лабораторные критерии для оценки метаболической патологии, из исследования исключены пациенты с отсутствием МФР в возрасте более 50 лет, имеющие 1-2 МФР до 50 лет.

В соответствии с критериями исключения в исследование включено 1946 женщин (МС – 1119, МС+ 827) и 505 мужчин (МС – 264, МС+ 241).

Взятие крови производили из локтевой вены утром натощак после не менее чем 12 часов голодания. Все аналиты определены в сыворотке или плазме. Анализ биохимических параметров тестов выполнялся при помощи стандартизированных методов на автоматических анализаторах Olympus AU- 5800 фирмы «Beckman Coulter» (США). Реактивы поставлены компанией-производителем анализаторов. В обязательном порядке проведен внутренний контроль и внешний контроль качества.

Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием статистического пакета MedCalc (MedCalc Software, Бельгия) и программы Microsoft Exel (Microsoft, США). Уровень статистической значимости исследования составлял 5% (или 0,05). Использованы параметрические методы для нормального распределения (дисперсионный анализ, t-критерий Стьюдента), в остальных случаях — непараметрические методы (критерии Манна–Уитни). Для описания представлены абсолютные числа и про-

Таблица 1

Уровни щелочной фосфатазы и общего кальция при разных метаболических фенотипах

Параметры	Пол	Критерии интерпретации		Состояние метаболического здоровья			
				МС - n=1383		МС+ n=1068	
		Ист.	Значения	Me	95% ДИ	Me	95% ДИ
ЩФ, Е/л	Муж.	РИ	40,0-130,0	83,95	78,88 – 89,02	80,00	76,78 – 83,22 p= 0,216
ЩФ, Е/л	Жен.	РИ	35,0-105,0	69,5	67,60 - 71,28	88,3	86,30 - 89,80 p< 0,0001
$Ca_{общ}$, ммоль/л	Муж.	РИ	2,20-2,55	2,41	2,38 – 2,44	2,45	2,42 – 2,48 p= 0,08
$Ca_{общ}$, ммоль/л	Жен.	РИ	2,20-2,55	2,39	2,38 - 2,40	2,45	2,43 - 2,46 p< 0,0001

Примечание. ЩФ – щелочная фосфатаза общая, $Ca_{общ}$ – кальций общий, Ист. – источник, РИ – референсный интервал.

центы, значения медианы (Me) и 95% доверительного интервала (95 ДИ%), значения *p*. Взаимосвязь признаков оценивали с использованием метода корреляции Пирсона (для параметрического семейства) или Спирмена.

Результаты и обсуждение. В нашем исследовании для изучения эффективных предикторов остеопороза выбраны наиболее доступные тесты: ЩФ и $Ca_{общ}$.

Оценка этих лабораторных параметров в табл. 1 указывает на гендерные различия между обследованными пациентами, сгруппированными по состоянию метаболического здоровья. У метаболически нездоровых женщин уровни щелочной фосфатазы и общего кальция статистически значимо различаются по сравнению со здоровыми женщинами ($p< 0,0001$), для мужчин подобных различий не выявлено. В связи с этим в дальнейший анализ включены только лица женского пола, сгруппированные по состоянию метаболического здоровья.

Изученные лабораторные биомаркеры имеют достоверные различия значений между сравниваемыми группами (табл. 2), при метаболически нездоровом фенотипе не отличаются от пограничного порога (предела клинического решения, референсного интервала), исключение глюкоза крови. Отношение R, вычисляемое по формуле R = (значение АЛТ÷значение АЛТ ВПЗ)÷(значение ЩФ÷ЩФ ВПЗ) [17], свидетельствует об отсутствии патологии печени. Учитывая, что гепатоцеллюлярное повреждение определяется как непропорциональное повышение уровней АСТ и АЛТ по сравнению с уровнем ЩФ, а холестатическое поражение определяется как непропорциональное повышение уровня ЩФ по сравнению с уровнями АСТ и АЛТ [17], мы получили подтверждение, что выявленные нами различия вероятнее всего связаны с повышением костной резорбции и увеличением костно-специфической щелочной фосфатазы как компонента ЩФ, а не патологией печени или желчных путей.

Учитывая, что существует линейная зависимость между уровнем АЛТ и индексом массы тела (ИМТ) [17], различие медиан значений АЛТ между группами (14,3 Е/л vs 18,9 Е/л) косвенно указывает на более высокий индекс массы тела для МС + женщин.

Статистически значимые различия между разными метаболическими фенотипами выявлены для женщин по показателям липидного обмена, ферментам печени, общему кальцию ($p< 0,0001$ соответственно). С ЩФ синхронно изменяются показатели ТГ, ХсЛПВп, ХсЛПНП, АЛТ, АСТ, $Ca_{общ}$, которые демонстрируют достоверную слабую связь (r 0,15- 0,2<0,3; $p< 0,001$).

Регрессионный анализ показал отсутствие связи между уровнем ЩФ и $Ca_{общ}$. Оценивая косвенные биомаркеры остеопороза при градации по возрасту жен-

Таблица 2

Лабораторная характеристика женщин

Параметры	Критерии интерпретации		Состояние метаболического здоровья			
			МС - *n*=1119		МС+ *n*=827	
	Ист.	Значения	Me	95% ДИ	Me	95% ДИ
АЛТ, Е/л	РИ	Муж. до 41 Жен. до 35	14,3	14,00 - 14,70	18,9	18,30 - 19,42 $p< 0,0001$
АСТ, Е/л	РИ	Муж. до 40 Жен. до 32	20,2	19,90 – 20,50	21,2	20,80 – 21,50 $p< 0,0001$
ОБ, мкмоль/л	РИ	До 21	10,2	10,00 - 10,50	10,2	10,00 - 10,60
ЩФ, Е/л	РИ	Муж. 40-130 Жен. 35-105	69,5	67,60 - 71,28	88,3	86,30 - 89,80 $p< 0,0001$
R отношение	[17]	>5 – повреждение гепатоцеллюлярной системы, <2 – холестаз, 2-5 – смешанная картина	0,62	0,59 – 0,64	0,65	0,42 – 0,88 $p=0,02$
ГЛ, ммоль/л	РИ	4,1 – 5,9	5, 00	4,96 - 5,02	6,61	6,52 - 6,71
ТГ, ммоль/л	[18]	<1,7 – N 1,7-2,2 – ПЗ 2,3-5,6 -ВЗ >5,6 -ОВЗ	0,97	0,94 - 1,00	2,25	2,20 - 2,30 $p< 0,0001$
ХсЛПВП, ммоль/л	[18]	< 1 – НЗ 1-1,5 – ПЗ > 1,5 – N	1,51	1,49 - 1,53	1,27	1,24 - 1,29 $p< 0,0001$
	[19]	ПР муж. >1,0 ПР жен. >1,2				
ХсЛПНП, ммоль/л	[19]	< 2,6 – N при риске ССЗ 2,6-3,3 – N, если нет ССЗ 3,4-4,1 – ПЗ, если нет ССЗ 4,1-4,9 – ВЗ, если нет ССЗ > 4,9 -ОВЗ	3,14	3,08 - 3,22	3,98	3,88 - 4,06 $p< 0,0001$

Примечание. АЛТ – аланин-аминотрасфераза, АСТ – аспартат-аминотрасфераза, ОБ – общий билирубин, ГЛ – глюкоза крови натощак, ТГ – триглицериды, ХсЛПВП -холестерин липопротеинов высокой плотности, ХсЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности, Ист. – источник, РИ – референсный интервал, N – норма, ПЗ – пограничные значения, ПР – предел решения; ВЗ – высокие значения, ОВЗ – очень высокие значения, НЗ – низкие значения, ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания.

DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-205-211

Таблица 3

Уровень общего кальция у женщин разных возрастных категорий

Возраст, годы	Количество пациентов (*n*=1946)	Состояние метаболического здоровья					
		МС -			МС+		
		Количество	Me, ммоль/л	95% ДИ, ммоль/л	Количество	Me, ммоль/л	95% ДИ, ммоль/л
18-29	150	150	2,45	2,31 – 2,57	-	-	-
30-39	282	282	2,39	2,29 – 2,5	-	-	-
40-49	238	238	2,37	2,21 – 2,54	-	-	-
50-59	339	137	2,38	2,3 – 2,51	202	2,45	2,34 – 2,55 *p*=0,009<0,01
60-69	487	106	2,42	2,29 – 2,57	381	2,46	2,34 – 2,58 *p*=0,01<0,05
>69	450	206	2,41	2,27 – 2,55	244	2,43	2,33 – 2,53 *p*=0,07

Таблица 4

Уровень щелочной фосфатазы у женщин разных возрастных категорий

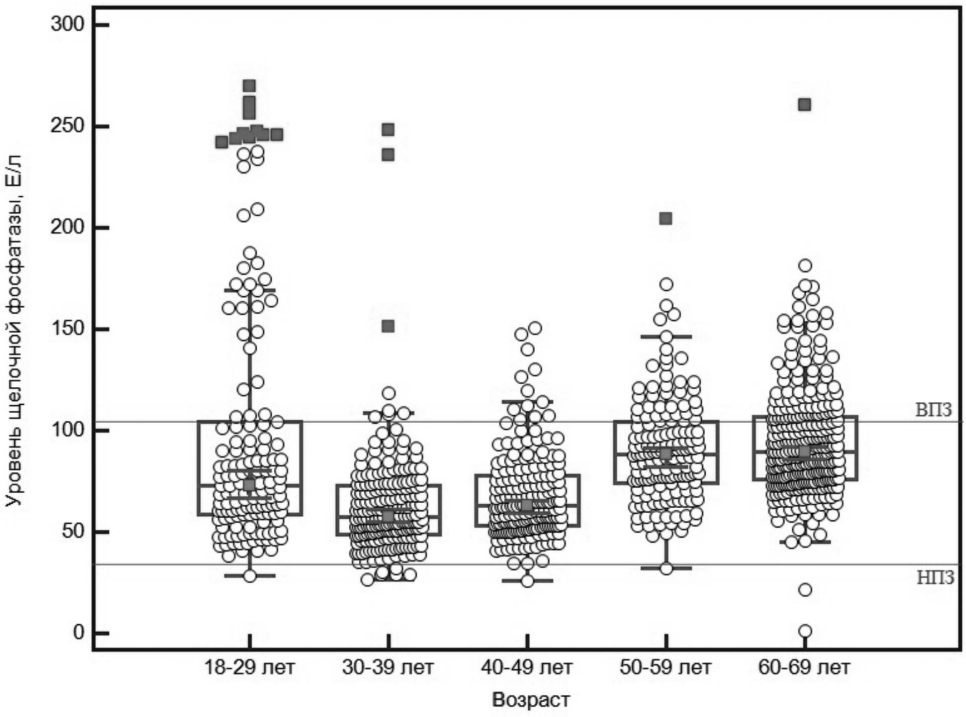
Возраст, годы	Количество пациентов (*n*=1946)	Состояние метаболического здоровья					
		МС -			МС+		
		Количество	Me, Е/л	95% ДИ, Е/л	Количество	Me, Е/л	95% ДИ, Е/л
18-29	150	150	68,75	63,90 – 74,49	-		
30-39	282	282	56,50	54,70 – 58,88	-		
40-49	238	238	63,90	60,34 – 67,26	-		
50-59	339	137	79,10	74,25 – 86,76 *p*<0,0001	202	84,65	78,96 – 88,82 *p*=0,24
60-69	487	106	75,75	69,80 – 82,64	381	89,30	86,09 – 91,51 *p*=0,0009 <0,001
>69	450	206	84,80	80,70 – 89,34	244	88,50	86,04 – 93,08 *p*=0,050

щин, необходимо отметить статистически достоверные различия уровня ЩФ только в возрастной группе 60-69 лет ($p< 0,001$), в то время как уровень $Ca_{общ}$ у метаболически нездорового фенотипа начинает различаться в более раннем возрасте 50-59 лет ($p< 0,05$) (табл. 3, 4, см. рисунок). Именно с этого возрастного периода начинается подъем медианы ЩФ и $Ca_{общ}$ у метаболически здоровых женщин.

Несмотря на имеющиеся в литературе данные, что у детей и пожилых людей уровень ЩФ повышается, особенно у женщин старше 50 лет, частично за счет костного обмена [17], повышение медианы ЩФ у женщин старше 50 лет с МС + по сравнению с МС – происходит без превышения верхнего значения референсного интервала (РИ). Возможно, это отражает начальные изменения маркеров костного ремоделирования, но остается без внимания клинических врачей. В то же время изменения в верхней четверти РИ (значения ЩФ выше 87,5 Е/л), которые рекомендуется оценивать как дополнительный фактор риска для инициации терапии остеопороза у женщин в постменопаузе с остеопенией [5], характеризуют только женщин МС – старше 60 лет – и не охватывают МС – женщин в пре- и постменопаузе, которые достоверно различаются по уровню ЩФ: 63,90 Е/л vs 79,10 Е/л ($p<0,0001$). Результаты представлены на рисунке.

Вероятно, это отчасти отражает проблему формирования РИ для ЩФ. Нормальные лабораторные значения, как правило, определяются как среднее значение здорового населения ±2 sd. Это включает в себя 95% субъектов. По определению, 2,5% населения будет больше, чем ВПЗ эталонного населения. Считается, что для уровней щелочной фосфатазы установление нормальных уровней не является проблематичным. Наше исследование указывает на необходимость не только исключения основного заболевания печени (в том числе таких состояний, как жировая дегенерация печени, вирусный гепатит, использование лекарственных средств или добавок), но и учета антропометрических данных (окружность талии, ИМТ), оценки остеопороза при определении здоровых контрольных популяций, которые используются для установления нормальных РИ ЩФ.

Ограничения. Необходимо обратить внимание на ограничения, которые связаны с системой учета информации в информационных системах и накладывают отпечаток на проведение big data analysis в медицине. Так, при формировании заказа на лабораторное исследование в подавляющем большинстве случаев не включается информация об антропометрических показателях пациентов (рост, вес, окружность талии, масса тела), это не позволило авторам использовать более точные критерии абдоминального ожирения. Наше исследование не учитывает наличие/отсутствие состояний, связанных с физиологическим (во время беременности из-за продукции плацентарной щелочной фосфатазы, рост костей после травм) или патологическим (хронические холестатические пора-



Уровень щелочной фосфатазы у женщин разных возрастов.

ВПЗ- верхнее пороговое значение референсного интервала, НПЗ – нижнее пороговое значение референсного интервала.

жения печени (первичный билиарный холангит, закупорка желчных протоков, лекарственные препараты, сепсис, общее парентеральное питание, синдром исчезающего желчного протока, саркоидоз)) повышением уровней щелочной фосфатазы.

Данное исследование является скрининговым этапом, авторы намерены продолжить исследование и поиск взаимосвязи уровней ЩФ и $Ca_{общ}$ с висцеральным ожирением и МПКТ с помощью компьютерной/магнитно-резонансной томографии.

Заключение. Ожирение оказалось как защитным, так и вредным для здоровья костей, и поэтому все его сопутствующие патологии необходимо принимать во внимание, чтобы объективно оценить всю картину. Возможно, такие простые показатели как ЩФ и $Ca_{общ}$ могут использоваться в доклинической диагностике остеопороза, как связанного с висцеральным ожирением, так и у худощавых женщин. Медианы значений изученных показателей не превышают верхние пороговые значения РИ, поэтому ни один лабораторный маркер не может быть предложен в качестве единственного лабораторного предиктора при оценке ранних функциональных отклонений в состоянии здоровья пациентов. Авторы предположили, что таким предиктором может стать интегральный параметр, представляющий совокупность нескольких показателей (лабораторных и антропометрических). Существует перспектива формирования модели прогнозирования остеопороза через оценку взаимосвязи уровней ЩФ и $Ca_{общ}$ с висцеральным ожирением и плотностью костей.

Благодарности. *Статья была подготовлена при сотрудничестве с ООО «Интеллектуальные решения». Авторы выражают особую признательность Белову Андрею Валерьевичу, разработчику программного комплекса «Медицинская информационная система «Эконбол-3» (МИС «Эконбол-3», свидетельство о государственной регистрации программ для ЭВМ №2016663689), за помощь в получении обезличенной информации.*

Конфликт интересов. *Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

Финансирование. *Исследование не имело спонсорской поддержки.*

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1-4, 6-13, 15-19 см. REFERENCES)

5. Мельниченко Г.А., Белая Ж.Е., Рожинская Л.Я., Торопцова Н.В., Алексеева Л.И. и соавт. Федеральные клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике остеопороза. *Проблемы эндокринологии.* 2017; 63(6): 392-426.
14. Корноухова Л.А., Эмануэль В.Л., Денисов Н.Л. Лабораторные предикторы метаболических нарушений функции печени при ожирении. *Доказательная гастроэнтерология.* 2019; 8(1): 16-22.

REFERENCES

1. Greco E.A., Lenzi A., Migliaccio S. The obesity of bone. *Ther. Adv. Endocrinol. Metab.* 2015; 6: 273–86.
2. Bone Health and Osteoporosis: A Report of the Surgeon General. Office of the Surgeon General (US). Rockville (MD): Office of the Surgeon General (US); 2004. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=20945569. 30.08.2019.
3. Reid I.R. Fat and bone. *Arch. Biochem. Biophys.* 2010; 503: 20–7.
4. Compston J. Obesity and bone. *Curr. Osteoporos. Rep.* 2013; 11: 30–5.
5. Mel'nichenko G.A., Belaya Zh.E., Rozhinskaya L.Ya., Toroptsova N.V., Alekseeva L.I. et al. Russian federal clinical guidelines on the

diagnostics, treatment, and prevention of osteoporosis. *Problemy endokrinologii*. 2017; 63(6): 392-426. (in Russian)
6. Palermo A., Tuccinardi D., Defeudis G., Watanabe M., D'Onofrio L., Lauria Pantano A. et al. BMI and BMD: The Potential Interplay between Obesity and Bone Fragility. *Int. J. Environ Res. Public Health.* 2016; 13(6). pii: E544.
7. Seidell J.C., Oosterlee A., Thijssen MAO, Burema J.Assessment of intra-abdominal and subcutaneous abdominal fat: relation between anthropometry and computed tomography. *Am. J. Clin. Nutr.* 1987; 45: 7–13.
8. Roriz A.K., Passos L.C., de Oliveira C.C. et al. Evaluation of the accuracy of anthropometric clinical indicators of visceral fat in adults and elderly. *PLoS ONE*. 2014; 9(12): e116449.
9. Ng A.C., Melton L.J., Atkinson E.J., Achenbach S.J., Holets M.F., Peterson J.M., Khosla S., Drake M.T. Relationship of adiposity to bone volumetric density and microstructure in men and women across the adult lifespan. *Bone.* 2013; 55: 119–25.
10. Bredella M.A., Gill C.M., Gerweck A.V., Landa M.G., Kumar V., Daley S.M., Torriani M., Miller K.K. Ectopic and serum lipid levels are positively associated with bone marrow fat in obesity. *Radiology.* 2013; 269: 534–41.
11. Bredella M.A., Torriani M, Ghomi R.H. Thomas B.J., Brick D.J., Gerweck A.V. et al. Determinants of bone mineral density in obese premenopausal women. *Bone*. 2011; 48(4): 748-54.
12. Amato M.C., Giordano C., Galia M., Criscimanna A., Vitabile S. et al. Visceral Adiposity Index: a reliable indicator of visceral fat function associated with cardiometabolic risk. *Diabetes Care.* 2010; 33: 920–2.
13. Kahn H. The «lipid accumulation product» performs better than the body mass index for recognizing cardiovascular risk: a population-based comparison. *BMC Cardiovascular Disorders*. 2005; 5: 26.
14. Kornoukhova L.A., Emanuel' V.L., Denisov N.L. Laboratory predictors of metabolic liver dysfunction in obesity. *Dokazatel'naya gastroenterologiya.* 2019; 8(1): 16-22. (in Russian)
15. EASL–EASD–EASO. Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Hepatology*. 2016; 64(6): 1388-1402.
16. Alberti K.G., Eckel R.H., Grundy S.M. et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement . *Circulation*. 2009; 120: 1640–5.
17. Kwo P.Y., Cohen S.M., Lim J. K. ACG Clinical Guideline: Evaluation of Abnormal Liver Chemistries. *American Journal of Gastroenterology.* 2017; 112 (1): 18–35.
18. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive summary of the third report of the NCEP (National Cholesterol Education Program), Adult Treatment Panel III (Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults*). JAMA*. 2001; 285: 2486–2583.
19. ESC/EAS Guidelines for the Management. The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *European Heart Journal.* 2016; 37: 2999–3058.

Поступила 04.02.20
Принята к печати 17.02.20

RUSSIAN CLINICAL LABORATORY DIAGNOSTICS. 2020; 65(4)
DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-212-215

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Янушевич О.О., Духовская Н. Е., Островская И.Г., Вавилова Т. П., Ахмедов Г.Д., Духовская А.А.

ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ ХОЛИНЭСТЕРАЗЫ В СМЕШАННОЙ СЛЮНЕ ПАЦИЕНТОВ С СОМАТИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава РФ, 127473, Москва, Россия

Была исследована активность холинэстеразы в смешанной слюне пациентов с соматической патологией. Результаты показали различия в активности фермента в зависимости от заболевания. Самая высокая активность холинэстеразы в слюне выявлена у пациентов с бронхо-легочной патологией, а наименьшая – при сердечно-сосудистых заболеваниях. Выявлена достоверная взаимосвязь изменения активности холинэстеразы в слюне со скоростью слюноотделения, и на фоне приема пациентами атипичных нейролептиков и М, Н-холинолитиков.

Ключевые слова: *холинэстераза; слюна; соматические заболевания.*

Для цитирования: *Янушевич О.О., Духовская Н. Е., Островская И.Г., Вавилова Т. П., Ахмедов Г.Д., Духовская А.А. Исследование активности холинэстеразы в смешанной слюне пациентов с соматической патологией. Клиническая лабораторная диагностика. 2020; 65 (4): 212-215. DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-212-215*

Yanushevish O.O., Dukhovskaya H.E., Ostrovskaya I.G., Vavilova T.P., Akhmedov G.D., Dukhovskaya A.A.

STUDY OF CHOLINESTERASE ACTIVITY IN MIXED SALIVA OF PATIENTS WITH SOMATIC PATHOLOGY

Cholinesterase activity in mixed saliva of patients with somatic pathology was investigated. The results showed differences in enzyme activity depending on the disease. The highest salivary cholinesterase activity was detected in patients with bronchopulmonary pathology, and the lowest – in cardiovascular diseases. A reliable relationship between the changes in the activity of cholinesterase in saliva and the rate of salivation, and with patients taking atypical antipsychotics and M, H-anticholinergic drugs, was revealed.

Keywords: *cholinesterase; saliva; somatic diseases.*

For citation: *Yanushevish O.O., Dukhovskaya H.E., Ostrovskaya I.G., Vavilova T.P., Akhmedov G.D., Dukhovskaya A.A. Study of cholinesterase activity in mixed saliva of patients with somatic pathology. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2020; 65 (4): 212-215 (in Russ.). DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-212-215*

For correspondence*: Dukhovskaya N.E.,* Ph.D. Sci. Med., Associate Professor at the Department propaedeutics of dental diseases; e-mail: ndukhovskay@mail.ru

Information about authors:

Dukhovskaya N.E., https://orcid.org/0000-0003-0533-7051
Ostrovskaya I.G., https://orcid.org/0000-0001-6788-4945
Vavilova T.P., https://orcid.org/0000-0002-4255-8825

Conflict of interests. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 31.01.2020
Accepted 17.02.2020

Введение. Холинэстеразы – группа ферментов класса гидролаз карбоновых кислот, субстратами которых являются сложные эфиры холина с уксусной, пропионовой или масляной кислотами. Различают два вида холинэстераз: ацетилхолин-ацетилгидролаза (КФ 3.1.1.7) и ацетилхолин-ацилгидролаза (КФ 3.1.1.8), а тривиальное название холинэстераза, с синонимами псевдохолинэстераза, которая выполняет в организме защитные функции [1]. В частности, она предохраняет от инактивации ацетилхолинэстеразу. Эстеразная активность была обнаружена в больших количествах в клетках протоков слюнных желез кролика, кошки, мыши, крысы. M.S. Burstone [2] выявил активность эстеразы в клетках протоков всех слюнных желез человека, мыши и крысы. Кроме того, эстеразная активность была обнаружена в клетках серозных полулуний подъязычных слюнных желез у человека и крысы, но она была незначительной. Применение селективных субстратов и ингибиторов холинэстеразы при pH 7,4 при изучении поднижнечелюстных слюнных желез крыс показало, что концентрации истинной холинэстеразы и псевдохолинэстеразы равны между собой [3]. Обнаружена высокая активность холинэстеразы лимфоцитов в слюне пациентов с синдромом Шегрена. Показано, что такая повышенная активность холинэстеразы лимфоцитарного происхождения может приводить к гипофункции лимфоцитов [4]. R. Farah и соавт. [5] предлагают рассматривать активность ацетилхолинэстеразы в слюне для изучения патофизиологии различных заболеваний и мониторинга парасимпатической активности слюнных желез. Показано, что активность общей ацетилхолинэстеразы в слюне пациентов с болезнью Альцгеймера была ниже по сравнению со здоровыми людьми. Не было выявлено существенных

Для корреспонденции: *Духовская Наталья Евгеньевна*, канд. мед. наук, доц. каф. пропедевтики стоматологических заболеваний; e-mail: ndukhovskay@mail.ru

различий в активности общей ацетилхолинэстеразы в слюне от возраста и пола обследуемых, и активность фермента не меняется в зависимости от длительности заболевания [6]. Слюнная истинная холинэстераза секретируется холинергическими нейронами, локализующимися в слюнных железах [7], а источником псевдохолинэстеразы в полости рта могут являться клетки слюнных желез, микроорганизмы, лейкоциты, зубной налет, десневая жидкость [8-10]. Показано, что активность псевдохолинэстеразы в слюне с возрастом снижается [7].

Цель: исследовать активность холинэстеразы в смешанной слюне пациентов с соматической патологией.

Материал и методы. В исследовании участвовали 143 пациента с соматической патологией, находящихся на амбулаторном и стационарном лечении по своему основному заболеванию. Из них 73 мужчины и 70 женщин в возрасте от 18 до 79 лет (средний возраст 46,6±1,32 лет). Среди обследованных было 7 пациентов с патологией сердечно-сосудистой системы (ССС), 88 пациентов с психотическими расстройствами (ПР), 35 пациентов с заболеванием желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и 13 пациентов с патологией бронхо-легочной системы (БЛС). У всех пациентов проводили осмотр тканей ротовой полости и осуществляли сбор смешанной слюны, которую собирали натощак, в утренние часы, в пластиковую мерную пробирку в течение 5 мин без стимуляции путем сплевывания. В полученных образцах слюны колометрическим методом определяли активность холинэстеразы (ХЭ) с использованием коммерческого набора фирмы «Вектор Бест» (Россия). Активность ХЭ в слюне выражали в МЕ/л. Результаты обрабатывали методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента, методов дисперсионного (ANOVA) и корреляционного (Spearmen) анализов. Достоверными считались значения при $p<0,05$.

Результаты и обсуждение. Активность ХЭ в слюне 112 пациентов имеет большие разбросы значений и колеблется от 1,22 до 1208 МЕ/л (в среднем 108±23,1 МЕ/л). У 31 пациента в смешанной слюне не была выявлена активность данного фермента.

Была получена гистограмма частоты распределения 112 значений активности ХЭ в слюне пациентов с соматической патологией. На рис. 1 хвост ассиметрии сдвинут влево, поэтому можно сделать вывод о наличии незначительной отрицательной асимметрии, объединенных отдельным столбиком слева. В диапазоне активности ХЭ в слюне от 400 до 900 МЕ/л имеется значительный провал. Гистограмма содержит один конкретно выраженный пик, поэтому доказательств присутствия данных из разных значений не выявлено.

Активность холинэстеразы определялась во всех полученных образцах слюны и не зависела от пола обследованных пациентов. Данные представлены в табл. 1.

Высокая активность ХЭ в слюне была зарегистрирована у пациентов с патологией БЛС и ПР, что в 2-4 раза превышает показатели контрольной группы (табл. 2).

У пациентов с патологией ЖКТ активность ХЭ в слюне была в 1,5 раза выше, чем у здоровых лиц. В группе пациентов с патологией ССС активность этого фермента в слюне была в 2 раза ниже по отношению к данным контрольной группы. Достоверных значений

Таблица 1

Результаты исследования активности ХЭ в слюне пациентов (*n*=112) по полу (M±m, min-max)

Пол	ХЭ, МЕ/л
Мужчины (*n*=58)	126±32,6 (1,80 – 1208)
Женщины (*n*=54)	98,4±27,6 (1,22 – 1261)
p	>0,5

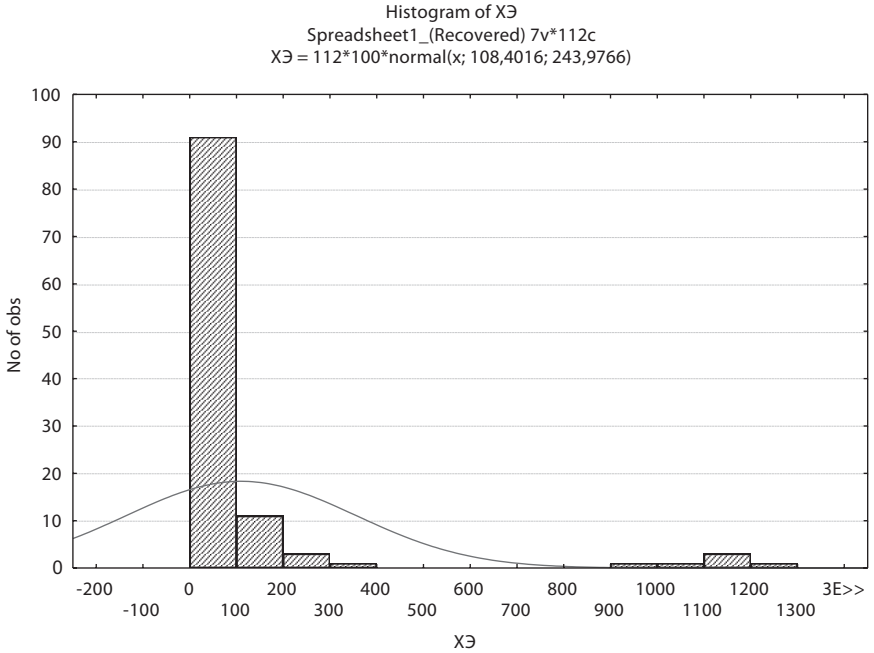


Рис. 1. Графическое представление частотного распределения активности ХЭ в слюне, разбитого по интервалам.

между исследуемыми группами не было выявлено в связи с большим разбросом полученных значений активности ХЭ в слюне.

Сопоставление активности ХЭ со скоростью слюноотделения выявило, что у пациентов с патологией ССС определялась низкая активность фермента в слюне при повышенной скорости слюноотделения. Напротив, у пациентов с патологией БЛС и ПР на фоне снижения скорости слюноотделения выявлялась высокая активность ХЭ. У больных с заболеваниями ЖКТ на фоне пониженной скорости слюноотделения активность ХЭ существенно не отличалась от показателей контрольной группы.

Применение однофакторного дисперсионного анализа позволило получить значимые результаты по изменению активности ХЭ слюны на фоне изменения скорости слюноотделения, приема антипсихотических препаратов – М, Н-холинолитиков и атипичных нейролептиков (табл. 3).

Показатели дисперсионного анализа установили более высокую степень свободы (df) и соответственно значения F-критерия (F), сопровождающиеся высоким уровнем значимости для скорости слюноотделения и атипичных нейролептиков.

Большой разброс значений активности фермента наблюдался в слюне пациентов при приеме атипичных нейролептиков – сероквель и арипиразол, а самые высокие значения ХЭ в слюне были выявлены при приеме нейролептика клозастена (рис. 3).

Значительная вариабельность активности ХЭ в слюне пациентов была выявлена на фоне приема препарата циклодол (рис. 4).

Таблица 2

Результаты исследования активности ХЭ в слюне пациентов в зависимости от соматической патологии (M±m, min-max)

Группы пациентов	ХЭ, МЕ/л
ССС (*n*=7)	35,2±4,13 (22,0 – 50,3)
ЖКТ (*n*=35)	84,3±33,0 (1,53 – 1149)
ПР (*n*=88)	111±26,4 (1,22 – 1208)
БЛС (*n*=13)	240±123 (7,65 – 1261)
Контроль (*n*=23)	60,5±10,3 (3,99 – 89,5)

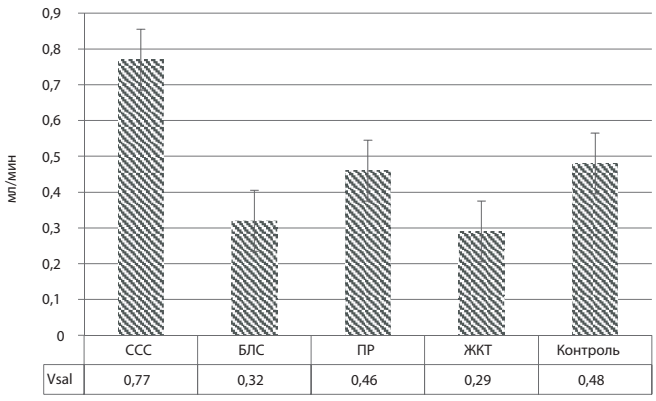


Рис. 2. Результаты измерения скорости слюноотделения в группах пациентов с соматической патологией.

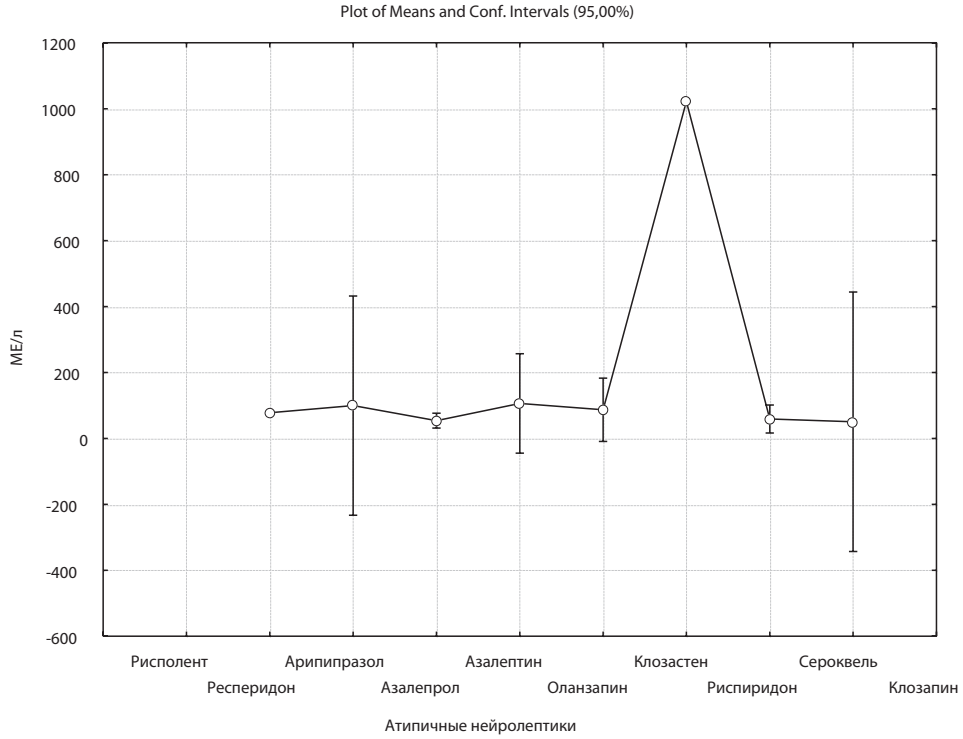


Рис. 3. График дисперсионного анализа изменения активности ХЭ в слюне на фоне приема атипичных нейролептиков.

DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-212-215

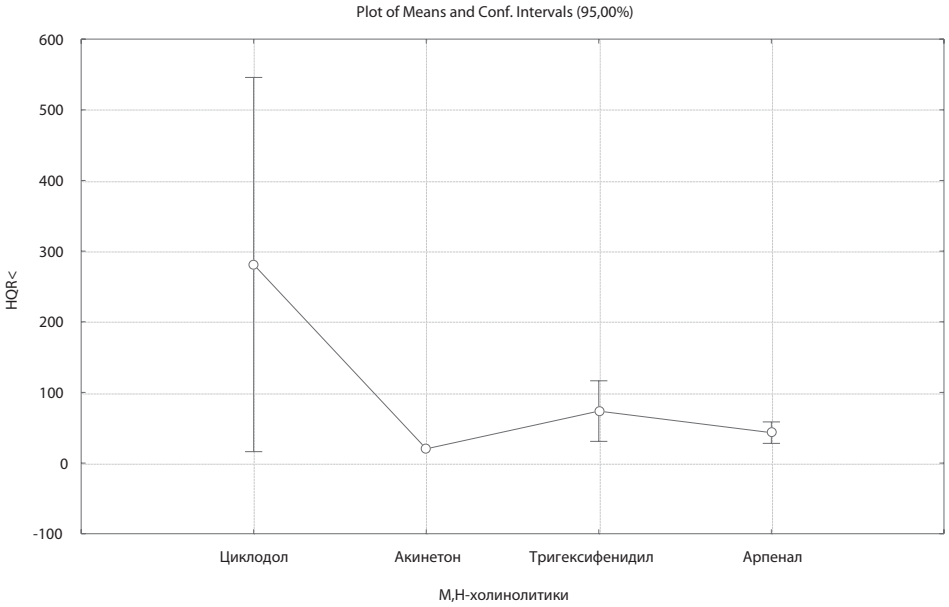


Рис. 4. График дисперсионного анализа изменения активности ХЭ в слюне на фоне приема М, Н-холинолитиков.

Таблица 3

Результаты дисперсии ANOVA активности ХЭ в зависимости от приема лекарственных препаратов

Группы	Переменная	SS	df	MS	F	*p*
Скорость слюноотделения		12,3	6	2,04	408	0,04
Атипичные нейролептики	Активность ХЭ	892981,3	7	127568,8	35,1	0,0000
М, Н -холинолитики		589751,6	3	196583,9	3,89	0,01

Примечание. Marked effects are significant at $p < 0,5000$. SS – сумма квадратов, df – степень свободы, F – значения F-критерия, *p* – уровень значимости.

Заключение. Таким образом, активность ХЭ в слюне зависит от скорости слюноотделения, от приема атипичных нейролептиков и холинолитиков. Не выявлено достоверной взаимосвязи активности ХЭ в слюне с полом, возрастом пациентов и pH слюны. Установлено, что активность ХЭ в слюне значительно растет при заболевании бронхолегочной системы, психотических расстройств, и менее значимо при патологии желудочно-кишечного тракта. При сердечно-сосудистой патологии активность фермента в слюне, напротив, понижается, что, возможно, является предиктором усугубления нейродегенеративных процессов в сосудистом русле.

Конфликт интересов. *Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

Финансирование. *Исследование не имело спонсорской поддержки.*

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Chessick H.I. Histochemical study of the distribution of esterases. *Histochem. and Cytochem.*1953; 2: 471-85.
2. Burstone M.S. Esterase of the salivary glands. *Histochem. and Cytochem.*1956; 4(2):130-9.
3. Ord M. G., Thompson H.H.S. The distribution of cholinesterase types in mammahian tissues. *Biochem.*1950; 46(3): 346-52.
4. Dawson L.J., Caulfield V.L., Stanbury J.B., Field A.E., Christmas S.E., Smith P.M. Hydroxychloroquine therapy in patients with primary Sjoëgren's syndrome may improve salivary gland hypofunction by inhibition of glandular cholinesterase. *Rheumatology*. 2005; 44: 449–55.
5. Farah R, Haraty H, Salame Z, Fares Y, Ojcius DM, Said Sadier N. Salivary biomarkers for the diagnosis and monitoring of neurological diseases. *Biomed. J*. 2018; 41: 63– 87.
6. Boston P.F., Gopalkaje K., Manning L., and Middleton L., Loxley M. Developing a simple laboratory test for Alzheimer's disease: Measuring acetyl cholinesterase in saliva – A pilot study. *Geriatr. Psychiatry*. 2008; 23: 439–40.
7. Bakhtiari S, Moghadamm NB, Ehsanim M, Mortazavim H, Sabour S, Bakhshi M. Can salivary acetylcholinesterase be a diagnostic biomarker for Alzheimer? *Clin. Diagn. Res*. 2017; 11: 58– 60.
8. Ueda K., Yamaguchi K. Cholinesterase activity of human saliva and types of the enzymes. Comparison of whole saliva with parotid saliva. *Bull Tokyo Dent. Coll.*1976; 17: 231– 41.
9. Ryhänen R., Närhi M., Puhakainen E., Hänninen O., Kontturi-Närhi V. Pseudo-cholinesterase activity and its origin in human oral fluid. *Dent. Res*.1983; 62: 20– 3.
10. Yamalik N., Ozer N., Caglayan F., Caglayan G., Akdoganli T. The effect of periodontal therapy on salivary pseudocholinesterase activity. *Dent Res*.1991; 70: 988– 90.

Поступила 31.01.20
Принята к печати 17.02.20

DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-216-221

ГЕМАТОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Гильмиярова Ф.Н., Колотьева Н.А., Кузьмичева В.И., Гусякова О.А., Бородина И.А., Баишева Г.М., Селезнева И.А.

ГРУППЫ КРОВИ И БОЛЕЗНИ ЧЕЛОВЕКА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава РФ, 443099, Самара, Россия

Антигены групп крови АВ0 были открыты более столетия назад, вместе с тем до сих пор представляется актуальным изучение их роли в развитии различных патологических состояниях. На сегодняшний день известно, что антигенные детерминанты этой группы крови представлены не только на мембране эритроцитов, но и на других клетках и тканях: тромбоцитах, эпителии желудочно-кишечного тракта и слюнных желез, клетках дыхательной системы. В последнее десятилетие появилось большое количество исследований, посвященных выявлению взаимосвязи между определенным заболеванием и групповой принадлежностью крови, опубликованы мета-анализы. Ранее авторами было проведено исследование метаболического статуса, клеточного состава и коагуляционного профиля клинически здоровых лиц на более чем 180 000 донаций, что позволило выявить группоспецифические особенности для каждой группы крови. В обзоре приведены обобщенные сведения об ассоциированности таких патологических состояний как ишемическая болезнь сердца, тромбоэмболические осложнения, опухоли различных локализаций, воспалительно-деструктивные заболевания ротовой полости, психиатрические и некоторые инфекционные заболевания с наличием или отсутствием антигенных детерминант А и В. Обладатели 0 (I) группы крови в целом более устойчивы к развитию заболеваний, исключение представляют H.pylori-ассоциированные заболевания желудочно-кишечного тракта. Носители «антигенных» групп крови А (II), В (III), АВ (IV) более подвержены развитию инфекционных, сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний. Представленные данные демонстрируют клиническую значимость определения групповой принадлежности не только для подбора крови и ее компонентов при переливании и пересадки органов, но и при диагностике, определении группы риска и составления тактики ведения пациентов с различными нозологиями.

Ключевые слова: *обзор; группы крови; система антигенов АВ0; болезни человека; H.pylori; малярия; шистосомоз; ишемическая болезнь сердца; рак желудка; рак пищевода; рак молочной железы; заболевания ротовой полости.*

Для цитирования: *Гильмиярова Ф.Н., Колотьева Н.А., Кузьмичева В.И., Гусякова О.А., Бородина И.А., Баишева Г.М., Селезнева И.А. Группы крови и болезни человека. Клиническая лабораторная диагностика. 2020; 65 (4): 216-221. DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-216-221*

Gilmiyarova F.N., Kolotyeva N.A., Kuzmicheva V.I., Gusyakova O.A., Borodina I.A., Baisheva G.M., Selezneva I.A.

BLOOD GROUP AND HUMAN DISEASES (REVIEW OF LITERATURE)

Samara State Medical University, 443099, Samara, Russia

AB0 blood group antigens were discovered over a century ago; however, it is still important to study their role in development of various pathological conditions. Today it is known that antigenic determinants of this blood group are present not only on erythrocyte membrane but also on other cells and tissues: platelets, gastrointestinal epithelium and salivary glands, respiratory system cells. In the last decade, a large number of studies have appeared to reveal the relationship between a specific disease and blood group type, meta-analyses have been published. Previously, the authors have studied the metabolic status, cell composition and coagulation profile of clinically healthy individuals for more than on 180,000 donations, that allowed to identify group-specific features for each blood group. This review presents generalized data on the association of such pathological conditions as coronary heart disease, thromboembolic complications, tumors of various localizations, inflammatory and destructive oral diseases, psychiatric and some infectious diseases with the presence or absence of antigenic determinants A and B. Carriers of blood group 0 (I) are generally more resistant to diseases, with the exception of H.pylori-associated gastrointestinal diseases. Carriers of «antigenic» blood groups A (II), B (III), AB (IV) are more susceptible to development of infectious, cardiovascular and cancer diseases. The presented data demonstrate clinical significance of the definition of group typing not only for selection of blood and its components during transfusion and transplantation, but also for diagnostics, determination of risk group and tactics for treatment patients with different nosologies.

Keywords: *review; blood groups; AB0 blood system; human diseases; H.pylori; malaria; schistosomiasis; coronary artery disease; stomach cancer; esophageal cancer; breast cancer; oral diseases.*

For citation: *Gilmiyarova F.N., Kolotyeva N.A., Kuzmicheva V.I., Gusyakova O.A., Borodina I.A., Baisheva G.M., Selezneva I.A. Blood group and human diseases (review of literature). Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2020; 65 (4): 216-221 (in Russ.). DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-216-221*

For correspondence: *Gilmiyarova Frida Nasyrovna,* Honored Scientist of the Russian Federation, MD, professor of the chair of fundamental and clinical biochemistry with laboratory diagnostics; e-mail: bio-sam@yandex.ru

Для корреспонденции: *Гильмиярова Фрида Насыровна*, заслуженный деятель науки РФ, д-р мед.наук, проф. каф. фундаментальной и клин. биохимии с лабораторной диагностикой; e-mail: bio-sam@yandex.ru

Information about authors:
Gilmiyarova F.N., http://orcid.org/0000-0001-5992-3609
Kolotyeva N.A. https://orcid.org/0000-0002-7583-622
Kuzmicheva V.I., https://orcid.org/0000-0002-5232-1549
Gusyakova O.A., https://orcid.org/0000-0002-5619-4583
Borodina I.A., https://orcid.org/0000-0001-7115-6430
Baisheva G.M., https://orcid.org/0000-0002-4414-9400
Selezneva I.A., https://orcid.org/ 000-0001-6647-5330
Conflict of interest. *The authors declare no conflict of interest.*
Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 14.02.2020
Accepted 20.02.2020

Введение. В настоящее время ведётся поиск взаимосвязей между предрасположенностью к определённым заболеваниям и наличием генетических маркеров в организме человека, которые могли бы указывать на возможность развития патологического процесса.

В этой связи антигены системы АВ0 представляют особый интерес. Система групп крови АВ0 была одной из первых открыта К. Ландштейнером и его учениками в 1901 г., за что в 1930 г. он был удостоен Нобелевской премии. По химической структуре антигены системы АВ0 представляют собой молекулы гликопротеинов, фиксированных на поверхности цитоплазматической мембраны эритроцита. Отличие антигенов данной группы крови заключается в наличии разных гликанов на конце олигосахаридной цепочки. [1]. Известно, что антигены системы АВ0 присутствуют не только на поверхности мембраны эритроцитов, но и в секреторном эпителии слюнных желёз, органов желудочно-кишечного тракта, половых желёз и дыхательной системы. Растворимую форму данных антигенов можно обнаружить в ротовой жидкости, сперме и других биологических секретах [2].

В настоящее время имеется большое количество информации по антигенам групп крови, содержащим углеводный компонент (АВ0, Lewis, Secretor), и их взаимосвязи с инфекционными и онкологическими заболеваниями. С помощью полученных данных возможна реализация целей персонализированной медицины в ходе диагностики и лечения пациентов [3].

Ранее, более чем на 180 000 донаций клинически здоровых лиц изучены особенности метаболизма углеводного, белкового и липидного обменов, клеточный состав крови [4,5], гемостазиологический профиль в зависимости от групповой принадлежности крови по системе АВ0 [6].Установлена ассоциированность между групповой принадлежности крови и развитием анемии, гемофилии, патологии беременности и гипотрофии плода [7, 8].

В данном обзоре приведены сведения, обобщающие результаты исследований за последнее десятилетие, направленных на установление взаимосвязи между групповой принадлежностью крови по системе АВ0 и вероятностью развития инфекционных и соматических заболеваний.

Для облегчения восприятия материала мы будем придерживаться разделения групп крови по системе АВ0 на «нулевую» – 0 (I), не содержащую антигенов А, В, АВ и «ненулевые», или «антигенные», которые соответствует группам крови А (II), В (III), АВ (IV) в общепринятой классификации [5].

Инфекционные заболевания. Гликаны играют важную роль в качестве молекул распознавания, что говорит ов вероятном наличии взаимосвязи между инфекционными заболеваниями и групповой принадлежностью крови. Многие виды позвоночных сохранили функциональный ген, ответственный за экспрессию А и В антигенов, однако у людей примерно половина популяции имеет генотип 0, что приводит к нарушению образования гликозилтрансфераз, осуществляющих завершение синтеза А и В антигенов. Полиморфизм генов АВ0 связан с эволюционной адаптацией как защитой от межвидовых и внутривидовых инфекций, поскольку антитела вырабатываются против несобственных антигенов А и В, которые попадают в организм с патогенной микрофлорой. Маскирование патогенных адгезивных гликотопов другими гликанами является ещё одним возможным защитным механизмом. В то время как сайты прикрепления инфекционных агентов на поверхности эпителия могут поддерживать их колонизацию, антигены системы АВ0, секретирующиеся в биологические жидкости, могут служить рецепторами-приманками для патогенной микрофлоры и тем самым выполнять защитную функцию [3].

Несмотря на эволюционные закономерности, для заболеваний желудочно-кишечного тракта, ассоциированых с *Helicobacter pylori*, характерна наибольшая восприимчивость у лиц с «нулевой» группой крови, что подтверждается мета-анализом, проведённым Z. Chakrani и соавт. [9]. Одной из причин является отсутствие фермента гликозилтрансферазы, осуществляющего присоединение концевых моносахаридов к L-фукозе – терминальному моносахариду вещества Н, который является общим предшественником для антигенов А и В. Для носителей 0(I) группы крови присуща трансформация субстанции Н в Le-b-антиген. Высокое количественное содержание данного антигена в слизистой оболочке желудка и двенадцатиперстной кишки повышает восприимчивость к инфекции *Helicobacter pylori*, поскольку служит дополнительными рецепторами для данного микроорганизма [10].

DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-216-221

Для большинства инфекционных заболеваний восприимчивость у обладателей «антигенных» групп крови выше по сравнению с носителями «нулевой» группы. В частности, мета-анализ A. Degarege и соавт. [11], в котором проводилось исследование особенностей течения малярии в зависимости от групповой принадлежности крови, показали, что более высокие шансы развития малярии *P. falciparum* отмечаются у лиц с A(II), B(III) и AB(IV) [12 – 15]. При сравнении распространённости плацентарной инфекции было отмечено, что по сравнению с 0(I) группой крови вероятность активного течения малярии *P. falciparum* выше у женщин с «антигенными» группами крови [16 – 18]. Согласно мета-анализу, проведенному R. E. Tiongco и соавт. [19], в котором исследовалось такое паразитарное заболевание как шистосомоз, было установлено, что люди, имеющие на поверхности мембраны эритроцитов антигенные детерминанты A и B, более восприимчивы к шистосомозу, чем люди, имеющие 0(I) группу крови, при этом отсутствует зависимость между видом шистосом и этнической принадлежностью исследуемых лиц.

Соматические заболевания. Установлено наличие взаимосвязи между групповой принадлежностью крови по системе AB0 и риском развития ишемической болезни сердца. Согласно данным Z. Chen и соавт. [20, 21], наименьший риск развития данного заболевания характерен для лиц с 0(I) группой крови, а наибольший – у лиц с A(II) группой крови.

Известно, что углеводные компоненты антигенов A и B экспрессируются на гликопротеиновых рецепторах тромбоцитов – GP IIa и IIIa, а также на комплексе GP IIb / IIIa, которые играют ключевую роль в тромбообразовании. Рецепторный комплекс GP IIb/IIIa обеспечивает агрегацию тромбоцитов посредством связывания фибриногена, фибронектина и фактора фон Виллебрандта. GP IIa, являясь частью комплекса GP Ia / IIa, связывает тромбоциты с коллагеном в местах поврежденного эндотелия. Таким образом, антигены системы AB0 способны модифицировать структуру гликопротеиновых рецепторов тромбоцитов и играть определённую роль в тромбообразовании, что обуславливает их взаимосвязь с сердечно-сосудистыми заболеваниями [22].

В исследовании, направленном на изучение зависимости частоты возникновения тромбоэмболических осложнений при различных заболеваниях с групповой принадлежностью крови, было установлено, что в сравнении с носителями 0 (I) группой крови частота развития таких состояний на 30% выше среди обладателей «антигенных »групп крови [23].

Объяснением представленной взаимосвязи также может служить антиген-опосредованное изменение уровней фактора фон Виллебрандта и фактора свертывания VIII в плазме крови [6], наименьшее содержание которых отмечается у обладателей «нулевой» группы. У лиц – носителей антигенов A и B наблюдается повышенное содержание названных факторов, что способствует увеличению риска тромбоза, а также объясняет вероятность возникновения ишемии миокарда. Отличие в уровне содержания представленных факторов свертывания обусловлено тем, что некоторые из участков фактора фон Виллебрандта подвергаются структурным модификациям посредством антигенов AB0. Известны три O-гликана, которые напрямую связываются с антигенными детерминантами, что приводит к пострансляционным изменениям в этих молекулах [24].

Интересно отметить, что такое различие в коагуляционном профиле находит свое отражение далеко за пределами системы гемостаза. Например, была показана зависимость между содержанием фактора фон Виллебранда и фактора VIII и развитием сосудистой деменции и когнитивных нарушений. Обладатели 0 (I) группой крови менее подвержены развитию возрастных изменений и, как следствие, имеют более долгую ожидаемую продолжительность жизни. Еще один интригующий механизм может включать в себя антиангиогенные свойства фактора фон Виллебранда, что объясняет более полную васкуляризацию головного мозга у лиц с 0 (I) группой, ввиду более низкого содержания факторов фон Виллебранда и фактора VIII по сравнению с лицами, имеющими A(II), B(III) или AB(IV) группы крови [25].

Помимо существования взаимосвязи между соматическими заболеваниями и групповой принадлежности крови, следует отметить наличие подобного рода ассоциаций с психическими расстройствами. По данным мета-анализа S.VukPisk и соавт. [26], развитие психических заболеваний в целом характерно для обладателей AB(IV) группы крови. Принимая во внимание отдельные нозологии, депрессивные расстройства чаще встречаются у носителей A(II) группы крови, а риск развития шизофрении и биполярного аффективного расстройства выше у лиц, имеющих 0(I) группу крови [27].Согласно некоторым исследованиям, более частое возникновение биполярного аффективного расстройства у субъектов с 0(I) группой крови связано с изменениями активности фермента дофамин-бета-гидроксилазы, участвующего в превращении дофамина в норадреналин, которая усиливает при биполярном аффективном расстройстве активность, а при депрессии – снижается. Носители 0(I) группы крови также более восприимчивы к развитию шизофренических расстройств, вероятно, из-за чрезмерного содержания дофамина [28].

Опухолевые заболевания. Рак желудка занимает пятое место среди наиболее часто диагностируемых злокачественных опухолей и является третьей по значимости причиной смерти во всём мире [29], поэтому установление взаимосвязи между группой крови и риском возникновения опухоли данной локализации имеет важное диагностическое значение. На данный момент определено, что наибольшее количество пациентов с раком желудка имеют A(II) и AB(IV) группы крови [30]. Отсюда следует, что определённую роль играет антиген A, оказывая влияние на системные воспалительные реакции, межклеточную адгезию, мембранную передачу сигналов, а также иммунный надзор за злокачественными клетками. Предполагается, что у лиц, положительных по данному антигену, снижена выработка свободной соляной кислоты, которая выполняет роль антибактериальной защиты, по сравнению с лицами,

не несущими данный антиген [31]. Также у носителей A(II) и AB(IV) групп крови отмечается снижение выработки растворимой формы молекулы межклеточной адгезии 1-го типа по сравнению с 0(I) и B(III) группами крови, что негативно сказывается на противоопухолевой защите иммунной системы [32]. Наименьший риск развития рака пищевода характерен для лиц с 0(I) группой крови, а наибольший – у лиц с B (III) группой крови [33].

Ежегодно диагностируется более миллиона новых случаев рака молочной железы [34]. По данным мета-анализа S.Y. Miao и соавт. [35], наиболее высокий риск возникновения рака молочной железы наблюдается у женщин со A (II) группой крови. Одной из причин является тот факт, что нормальная ткань молочной железы постоянно экспрессирует одноименные антигены группы крови, в то время как в областях доброкачественных неоплазий молочной железы наблюдалась более разнообразная картина экспрессии антигенов. Свой вклад в развитие патологического процесса вносят гликозилтрансферазы, которые являются медиаторами межклеточной адгезии и мембранной передачи сигналов. Они играют важную роль в злокачественной прогрессии и распространении опухолевых клеток [36].

Заболевания ротовой полости. Не менее важную роль в структуре общей заболеваемости играют воспалительно-деструктивные заболевания ротовой полости. Дифференциальная секреция антигенов группы крови AB0 в тканях может быть фактором, влияющим на развитие системных заболеваний полости рта и зависит от секреторного статуса пациента. На экспрессию антигенов системы AB0 влияют дифференцировка и созревание клеток в многослойном плоском эпителии ротовой полости. На клетках базального слоя отмечается экспрессия предшественников углеводных цепей антигенов A и B, тогда как сами антигены чаще обнаруживаются в шиповатом слое. В тканях полости рта присутствие A и B-гликозилтрансфераз и их субстратов определяет экспрессию антигенов A и B [37].

Взаимосвязь воспалительно-деструктивных заболеваний с групповой принадлежностью крови на сегодняшний день не установлена, полученные данные противоречивы, отсутствуют мета-анализы. Мы приводим исследования ряда авторов по этой проблеме. Согласно данным исследования Gurpur Prakash Pai и соавт. [38], которое включало в себя 750 обследуемых лиц, самый высокий процент здоровых добровольцев отмечается среди носителей 0(I) группы крови, тогда как большинство пациентов с умеренной и тяжёлой степенью тяжести гингивита являются представителями A(II) и B(III) групп крови. Аналогичная ситуация характерна для лиц, у которых был диагностирован пародонтит. Данная закономерность может быть связана с тем, что антигены A и B служат рецепторами для фиксации инфекционных агентов, тем самым способствуя развитию деструктивно-воспалительных заболеваний пародонта.

По данным результатов исследования D.Mostafa и соавт. [39], в котором приняли участие 1126 пациентов с генерализованным хроническим пародонтитом, напротив, лица с 0(I) группой крови имеют повышенный риск независимо от степени тяжести по сравнению с другими группами крови. Носители 0(I) группы крови и лица cA(II), B(III), AB(IV), у которых антигены A и B отсутствуют в ротовой жидкости, более подвержены воспалительно-деструктивным заболеваниям ротовой полости. Также следует учитывать пониженное содержание IgA в ротовой жидкости у таких лиц, что может поставить под угрозу их способность поддерживать антибактериальную защиту ротовой полости [40].

Заключение. Рассматривая группы крови как эволюционное наследие, можно заключить, что обладатели 0 (I) группы крови, мембрана эритроцитов которых не содержит антигенов по системе AB0 в сравнении с другими «антигенными» вариантами этой системы, обладают определенным преимуществом в отношении общего риска развития новообразований, сердечно-сосудистых заболеваний, тромбоэмболических осложнений, а также некоторых других опасных для жизни инфекций.

В течение последних десятилетий различные исследователи проводили оценку того, имеет ли врожденная биологическая детерминанта, которой является носительство антигенов системы AB0, клиническое значение, выходящее за рамки применения в трансфузионной и трансплантационной медицине.

В настоящее время накопился достаточный объем данных, свидетельствующий о роли антигенов AB0 в патогенезе различных системных заболеваний, включая онкологические, инфекционные, сердечно-сосудистые и ряд других. Представленные данные обосновывают необходимость учета групповой принадлежности крови при диагностике различных заболеваний, планировании лечения или оценке степени благоприятности прогноза. Справедливым может являться включение групповой принадлежности крови в шкалы по определению риска развития сердечно-сосудистых заболеваний, нарушений системы гемостаза, заболеваний желудочно-кишечного тракта.

Определение групповой принадлежности по системе AB0 стало рутинным лабораторным исследованием, однако, перспектива использования этих данных в контексте персонализированной медицины все еще остается недооцененной…

Финансирование. *Исследование не имело спонсорской поддержки.*

Конфликт интересов. *Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

ЛИТЕРАТУРА (пп.2, 3, 9 – 40 см. REFERENCES)

1. Шауцукова Л.З. Система группы крови AB0. Генетика, биохимия, физиология. *Известия вузов. Северо-Кавказский регион. Естественные науки*. 2010; 2: 131-3.
4. Гильмиярова Ф.Н., Радомская В.М., Гергель Н.И., Гусякова О.А., Сидорова И.Ф. Группы крови: биологическая вариабельность клеточного состава и метаболизма в норме и патологии. М.: Известия; 2007.
5. Гильмиярова Ф.Н., Гусякова О.А., Кузьмичева В.И., Ерещенко А.А., Васильева Т.В., Бородина И.А. и др. Клеточный и метаболический профиль по системе AB0: распределение по группам,

сравнительная характеристика. *Сибирское медицинское обозрение.* 2019; 3(117): 24-33.
6. Гусякова О.А., Гильмиярова Ф.Н., Кузьмичева В.И., Ерещенко А.А., Потякина Е.Е., Мурский С.И. и др. Особенности показателей коагулограммы в зависимости от антигенного состава группы крови по системе АВ0. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2019; 64(3): 170-5.
7. Гильмиярова Ф.Н., Гергель Н.И., Косякова Ю.А. АВ0-группоспецифические особенности эритроцитов в норме и при гемофилии. *Гематология и трансфузиология.* 2012; 57(3): 102.
8. Косякова Ю.А., Давыдкин И.Л., Гильмиярова Ф.Н., Гергель Н.И., Гусякова О.А, Селезнева И.А. Группо-специфические особенности гемопоэтического потенциала в норме и у больных гемофилией. *Гематология и трансфузиология*. 2015; 60(1): 18-21.

REFERENCES

1. Shautsukova L.Z. Blood group system AB0. Genetics, biochemistry, physiology *Izvestija vuzov. Severo-Kavkazskij region. Estestvennye nauki.* 2010; 2: 131-3. (in Russian)
2. Reid M., Lomas-Francis C. The Blood Group Antigen Facts Book. London: Elsevier; 2004.
3. Dotz V., Wuher M. Histo-blood group glycans in the context of personalized medicine. *Biochimica et biophisica acta.* 2016; 1860(8): 1596-1607.
4. Gil'miyarova F.N., Radomskaya V.M., Gergel' N.I., Gusyakova O.A., Sidorova I.F. Blood groups: biological variability of the cell composition and metabolism in normal and pathological conditions. Moscow: Izvestiya; 2007. (in Russian)
5. Gil'miyarova F.N., Gusyakova O.A., Kuz'micheva V.I., Ereshhenko A.A., Vasil'eva T.V., Borodina I.A. et al. Cellular composition and blood metabolic profile according to AB0 system: grouping, comparative description. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie*. 2019; 3 (117): 24-33. (in Russian)
6. Gusyakova O.A., Gil'miyarova F.N., Kuz'micheva V.I., Ereshhenko A.A., Potyakina E.E., Murskiy S.I. et al. Coagulation test features depending on the AB0-blood system antigenic composition. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2019; 64(3): 170-5. (in Russian)
7. Gil'miyarova F.N., Gergel' N.I., Kosyakova Yu. AB0-group-specific features of red blood cells are normal and with hemophilia. *Gematologiya i transfuziologiya.* 2012; 57(3): 102. (in Russian)
8. Kosyakova Yu.A., Davydkin I.L.1, Gil'miyarova F.N., Gergel' N.I., Gusyakova O.A., Seleznyova I.A. et. al. Group-specific hemopoietic potential in health individuals and hemophilia patients. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2015; 60(1): 18-21. (in Russian)
9. Chakrani Z., Robinson K., Taye B. Association Between ABO Blood Groups and Helicobacter Pylori Infection: A Meta-Analysis. Scientific reports.. 2018; 8(1): 1-11.
10. Boren T., Falk P., Roth K.A., Larson G., Normark S. Attachment of Helicobacter pylori to human gastric epithelium mediated by blood group antigens. *Science.* 1993; 262(5141): 1892–5.
11. Degarege A., Gebrezgi M.T., Beck-Sague C.M., Wahlgren M., de Mattos L.C., Madhivanan P. Effect of AB0 Blood Group on Asymptomatic, Uncomplicated and Placental Plasmodium Falciparum Infection: Systematic Review and Meta-Analysis. *BMC Infectious Diseases*. 2019; 19(1): 86.
12. Gupte S.C., Patel A.G., Patel T.G. Association of ABO groups in malaria infection of variable severity. *Journal of vector borne diseases*. 2012; 49(2):78–81.
13. Thakur A., Verma I.C. Malaria and ABO blood groups. *Indian journal of malariology.* 1992; 29(4): 241–4.
14. Zerihun T., Degarege A., Erko B. Association of AB0 blood group and Plasmodium falciparum malaria in Dore Bafeno area, Southern Ethiopia. *Asian pacific journal of tropical biomedicine.* 2011; 1(4): 289–94.
15. Jeremiah Z.A., Jeremiah T.A., Emelike F.O. Frequencies of some human genetic markers and their association with Plasmodium falciparum malaria in the Niger delta, Nigeria. *Journal of vector borne diseases*. 2010; 47(1): 11–6.
16. Bedu-Addo G., Gai P.P., Meese S., Eggelte T.A., Thangaraj K., Mockenhaupt F.P. Reduced prevalence of placental malaria in primiparae with blood group 0. *Malaria Journal*. 2014; 13:289.
17. Senga E. , Loscertales M.P., Makwakwa K.E., Liomba G.N., Dzamalala C., Kazembe P.N., Brabin B.J. AB0 blood group phenotypes influence parity specific immunity to Plasmodium falciparum malaria in Malawian women. *Malaria Journal*. 2007; 6:102.
18. Degarege A, Gebrezgi MT, Ibaneza G, Wahlgren M, Madhivanan P. Effect of the AB0 blood group on susceptibility to severe malaria: a systematic review and meta-analysis. *Blood reviews.* 2018; 33: 53–62.
19. Tiongco R.E., Paragas N.A., Dominguez M.J., Lasta S.L., Pandac J.K., Pineda-Cortel M.R. AB0 Blood Group Antigens May Be Associated With Increased Susceptibility to Schistosomiasis: A Systematic Review and Meta-Analysis (2018). Available at: https://www.cambridge.org/core/journals/journal-of-helminthology/article/abo-blood-group-antigens-may-be-associated-with-increased-susceptibility-to-schistosomiasis-a-systematic-review-and-metaanalysis/7940E3769F1A696A2D33E002A42E355F (Accessed 12 February 2020).
20. Chen Z., Yang S.H., Xu H., Li J.J. AB0 Blood Group System and the Coronary Artery Disease: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis. *Scientific Reports.* 2016; 6: 23250.
21. Wazirali H., Ashfaque R. A., Herzig J.W. Association of blood group A with increased risk of coronary heart disease in the Pakistani population (2005). Available at: https://www.researchgate.net/publication/228371859_Association_of_blood_group_A_with_increased_risk_of_coronary_heart_disease_in_the_Pakistani_population (Accessed 12 February 2020).
22. Zhong M., Zhang H., Reilly J.P., Chrisitie J.D., Ishihara M., Kumagai T. et al. AB0 Blood Group as a Model for Platelet Glycan Modification in Arterial Thrombosis. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2015; 35(7): 1570-8.
23. Vasan S.K., Rostgaard K., Majeed A., Ullum H., Titlestad K.E., Pedersen O.B. et al. AB0 Blood Group and Risk of Thromboembolic and Arterial Disease: A Study of 1.5 Million Blood Donors. *Circulation.* 2016; 133(15): 1449–57.
24. Jenkins P.V., O'Donnell J.S. AB0 blood group determines plasma von Willebrand factor levels: a biologic function after all? Transfusion 2006; 46: 1836–1844.
25 Franchini M, Liumbruno GM. AB0 blood group and neurodegenerative disorders: more than a casual association. *Blood transfusion*. 2016; 14(2): 158–9.
26. Pisk S.V., Vuk T., Ivezić E., Jukić I., Bingulac-Popović J., Filipčić I. AB0 Blood Groups and Psychiatric Disorders: A Croatian Study. Blood transfusion. 2019; 17(1): 66-71
27. Flemenbaum A., Larson J.W. ABO-RH blood groups and psychiatric diagnosis: a critical review. *Diseases of nervous system*. 1976; 37: 581–3.
28. Meijas-Aponte CA. Specificity and impact of adrenergic projections to the midbrain dopamine system. *Brain research*. 2016; 15: 258–73.
29. Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I., Siegel R.L., Torre L.A., Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2018; 68(6): 394–424.
30. Mao Y., Yang W., Qi Q., Yu F., Wang T., Zhang H. et al. Blood Groups A and AB Are Associated With Increased Gastric Cancer Risk: Evidence From a Large Genetic Study and Systematic Review. *BMC cancer*. 2019; 19(1): 164. doi: 10.1186/s12885-019-5355-4
31. Sievers M.L. Hereditary aspects of gastric secretory function; race and ABO blood groups in relationship to acid and pepsin production. *The American journal of medicine*. 1959; 27: 246–55.
32. Pare G., Chasman D.I., Kellogg M., Zee R.Y., Rifai N., Badola S. et al. Novel association of AB0 histo-blood group antigen with soluble ICAM-1: results of a genome-wide association study of 6,578 women. *PLoS genetics*. 2008; 4(7):e1000118.

33. Wang W., Liu L., Wang Z., Lu X., Wei M., Lin T. et al. AB0 Blood Group and Esophageal Carcinoma Risk: From a Case-Control Study in Chinese Population to Meta-Analysis. *Cancer causes & control: CCC*. 2014; 25(10): 1369-77.
34. Ferlay J., Shin H.R., Bray F., Forman D., Mathers C, Parkin D.M. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *International journal of cancer*. 2010; 127: 2893– 2917.
35. Miao S.Y., Zhou W., Chen L., Wang S., Liu X.A. Influence of AB0 Blood Group and Rhesus Factor on Breast Cancer Risk: A Meta-Analysis of 9665 Breast Cancer Patients and 244,768 Controls. *Asia-Pacific journal of clinical oncology*. 2014; 10(2): 101-8.
36. Hakomori S. Antigen structure and genetic basis of histo-blood groups A, B and O: their changes associated with human cancer. *Biochimica et biophysica acta*. 1999; 1473: 247– 66.
37. Campi C., Escovich L., Valdés V., Garcva Borrás S., Racca L., Racca A. et al. Secretor status and ABH antigens expression in patients with oral lesions. *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal*. 2007; 12(4): 431–4.
38. Pai G.P., Dayakar M.M., Shaila M., Dayakar A. Correlation Between «AB0» Blood Group Phenotypes and Periodontal Disease: Prevalence in South Kanara District, Karnataka State, India. *Journal of Indian Society of Periodontology*. 2012; 16(4): 519-23.
39. Mostafa D., Elkhatat E.I., Koppolu P., Mahgoub M., Dhaifullah E., Hassan A.H. Correlation of AB0 Blood Groups and Rh Factor With The Severity of Generalized Chronic Periodontitis: Across Sectional Study in Riyadh, Saudi Arabia. *Open access Macedonian journal of medical sciences*. 2019; 15; 7(4): 617-22.
40. Blackwell CC. The role of AB0 blood groups and secretor status in host defences. FEMS *Microbiology immunology*. 1989; 1(6-7): 341–9.

Поступила 14.02.20
Принята к печати20.02.20

КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА. 2020; 64(4)
DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-222-227

ГЕМАТОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Чепурная А.Н.[1], Сафуанова Г.Ш.[1], Никуличева В.И.[1], Лехмус Т.Ю.[1], Рахматуллина А.Р.[2]

ЭРИТРОЦИТОЗЫ У БОЛЬНЫХ ДИЛАТАЦИОННОЙ И ИШЕМИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ

[1]ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 450000, Уфа, Россия;
[2]ГБУЗ Республиканская клиническая больница им. Г.Г. Куватова, 450005, Уфа, Россия

Цель исследования: оценить влияние эритроцитозов на процессы ремоделирования сердечно-сосудистой системы у пациентов с дилатационной и ишемической кардиомиопатиями. В исследование включены 35 (42,2%) больных дилатационной кардиомиопатией (ДКМП) с эритроцитозами, 19 (23,5%) без эритроцитоза, 34 (28,4%) больных ишемической кардиомиопатией (ИКМП) с эритроцитозом и 50 (60,1%) без эритроцитоза. Установлено, что эритроцитозы значимого влияния на гемодинамику сердца не оказывают, являются следствием основных заболеваний, а не их причиной, что подтверждает доминирование в исследуемых группах признаков ХСН III-IV ФК. У больных с ДКМП и ИКМП установлены признаки тканевой гипоксии, снижение кислорода в артериальной крови до 60,70 ± 1,24 мм рт. ст. при ДКМП и 59,60 ± 1,24 мм рт. ст. при ИКМП (в контроле 75,44 ± 0,93) – p < 0,001. Можно считать, что эритроцитозы при ДКМП и ИКМП являются следствием недостаточности кислорода, что приводит к развитию гипоксического эритроцитоза.

Ключевые слова: *дилатационная кардиомиопатия; ишемическая кардиомиопатия; эритроцитозы; гипоксия.*

Для цитирования: *Чепурная А.Н., Сафуанова Г.Ш., Никуличева В.И., Лехмус Т.Ю., Рахматуллина А.Р. Эритроцитозы у больных дилатационной и ишемической кардиомиопатией. Клиническая лабораторная диагностика. 2020; 65 (4): 222-227. DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-222-227*

Chepurnaya A.N.[1], Safuanova G.Sh.[1], Nikulicheva V.I.[1], Lekhmus T.Y.[1], Rakhmatullina A.R. [2]

ERYTHROCYTOSES IN PATIENTS WITH DILATED AND ISHAEMIC CARDIOMYOPATHY

[1]Federal State Budgetary and Educational Institution of Higher Education of the Russian Federation "Bashkir State Medical University", 450000, Ufa, Russian Federation;
[2]Publicly Funded Health Facility n.a. G.G. Kuvatov, 450005, Ufa, Russian Federation

The aim of research was to evaluate the impact of erythrocytoses on processes of cardiovascular system's remodelling in patients with dilated and ishaemic cardiomyopathies. 35 (42,2%) patients with dilated cardiomyopathy (DCMP) with erythrocytoses, 19 (23,5%) without erythrocytosis, 34 (28,4%) patients with ishaemic cardiomyopathy (ICMP) with erythrocytosis and 50 (60,1%) without erythrocytosis were included in the study. It has been established that erythrocytoses don't wield major influence on the heart's haemodynamics, they appear as a consequence of main diseases and not as their reason, which confirms the domination of congestive heart failure's signs of III-IV stages. In patients with DCMP and ICMP signs of tissue hypoxia were established as well as oxygen reduction in arterial blood to 60,70 ± 1,24 mm Hg in cases of DCMP and 59,60 ± 1,24 mm Hg in cases of ICMP (in verification 75,44 ± 0,93) – p < 0,001. Arguably, erythrocytoses in cases of DCMP and ICMP are a consequence of congestive heart failure, leading to hypoxic erythrocytosis.

Keywords: *dilated cardiomyopathy; ischemic cardiomyopathy; erythrocytoses; hypoxia.*

For citation: *Chepurnaya A.N., Safuanova G.Sh., Nikulicheva V.I., Lekhmus T.Yu., Rakhmatullina A.R. Erythrocytoses in patients with dilated and ischemic cardiomyopathy. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2020; 65 (4): 222-227 (in Russ.). DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-222-227*

For correspondence: *Lekhmus T.Yu.,* Associate Professor of the Department of Therapy and General Medical Practice with the Geriatrics Course; e-mail: Itaty@mail.ru

Conflict of interest. *The authors declare no conflict of interest.*

Acknowledgment. *The study had no sponsorship.*

Received 11.01.2020
Accepted 15.01.2020

Введение. Диагноз дилатационной кардиомиопатии (ДКМП) установлен на основе морфологических критериев классификации Европейской ассоциации кардиологов и Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ, 1995) [1], при наличии у больных дилатации, нарушения систолической функции левого желудочка при отсутствии клапанной патологии, артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца, нарушения сократимости левого желудочка или обоих желудочков. Учитывали этиологические факторы: семейные, генетические аномалии, наличие вирусов, иммунных нарушений, патологии гемостаза, злоупотребление алкоголем, железодефицитной анемии, анемии хронических заболеваний.

Ишемическая кардиомиопатия (ИКМП) – это заболевание миокарда с увеличением размеров полостей сердца и хронической сердечной недостаточностью (ХСН), являющуюся конечным этапом сердечно-со-

Для корреспонденции: *Лехмус Татьяна Юрьевна*, канд. мед. наук, доц. каф. терапии и общей врачебной практики с курсом гериатрии; e-mail: Ltaty@mail.ru

судистого континуума, ХСН, приводящей к смерти [2,3]. Также учитывали, что за «неясной этиологией» могут быть трудно распознаваемые причины кардиомиопатий, а ХСН может сочетаться с различными заболеваниями, которые могут оказывать как самостоятельное, так и провокационное сочетанное влияние на формирование ХСН при кардиомиопатиях [2]. Выявление значимых причин, влияющих на частоту летальных исходов, дает возможность при ХСН провести своевременную корригирующую терапию. Длительная тяжелая анемия также может быть причиной острой сердечной недостаточности и декомпенсации ХСН и развития КМП [4].

В настоящее время есть данные исследователей, свидетельствующие о том, что у больных ДКМП и ИКМП анемию хронических заболеваний (АХЗ) необходимо всегда дифференцировать с хронической железодефицитной анемией (ЖДА). Назначение препаратов железа при АХЗ приводит к нарушению синтеза гемоглобина, вызывает повреждение тканей и ретикулоэндотелиальной системы и увеличивает риск острых сердечно-сосудистых событий и неблагоприятное влияние на ХСН у больных ДКМП и ИКМП [5].

Важной проблемой является и дифференциальная диагностика эритроцитозов при различных формах миелопролиферативных заболеваний и при вторичных гипоксических реакциях. Вторичные, относительные, гипоксические эритроцитозы часто являются последним этапом компенсации при хронических заболеваниях легких, почек, гипертонической болезни, пороках сердца, приводящих к повышению объема циркулирующей крови. Известно, что эритроцитоз может быть гематологическим проявлением заболевания негематологической природы. Следует отметить, что и истинная полицитемия может длительно проявляться в виде изолированного эритроцитоза [8-10]. В настоящее время выделяют вторичные эритроцитозы (гипоксические), нефрогенные, эритроцитозы при увеличении объема плазмы, опухоли печени, почек, а также семейные эритроцитозы. Поэтому важно дифференцировать первичные (опухолевые) или вторичные (реактивные) эритроцитозы [8-12]. Работ, посвященных изучению особенностей ремоделирования сердечно-сосудистой системы у пациентов дилатационной и ишемической кардиомиопатией с эритроцитозом в доступной нам литературе, не обнаружено, что и определяет актуальность изучения эритроцитозов при ДКМП и ИКМП.

Материал и методы. Под наблюдением находились 81 пациент ДКМП, из них 27 (33,3 %) с анемией, 35 (42,2 %) – с эритроцитозом, 19 (23,5 %) – без анемии и эритроцитоза; 95 больных с ИКМП, из них 11 (11,5 %) с анемией, 34 (28,4 %) – с эритроцитозом, 50 (60,1 %) без анемии и эритроцитоза. В дальнейшем в данное исследование включены только группы сравнения: 35 (43,2 %) пациентов ДКМП с эритроцитозом и в качестве контроля 19 (23,5 %) больных ДКМП без анемии и эритроцитоза; 34 (28,4 %) больных ИКМП с эритроцитозом, 50 (60,1%) – без анемии и эритроцитоза. Включение больных и здоровых в программу исследования проведено после подписания информированного согласия в соответствии со статьей 31 кодекса РФ «Об охране здоровья граждан» и одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет МЗ РБ». Диагностику и оценку клинических данных проводили в соответствии с международной классификацией болезней 10 пересмотра (1995) с учетом национальных рекомендаций Всероссийского научного общества кардиологов и общества специалистов по сердечной недостаточности по диагностике и лечению ХСН (3-й и 4-й пересмотры). Критерием эритроцитоза у больных ДКМП и ИКМП считали количество эритроцитов более $5{,}0x10^{12}$/л. Содержание эритроцитов определяли с помощью гематологического анализатора Sysmex F-820 (Toa Medical, Япония). Проводили рентгенографию на наличие кардиомегалии, расширения предсердий, перикардиального выпота, венозного застоя в легких и плеврального выпота. В программу инструментальных исследований включали электрокардиограмму, эхокардиографию (аппарат Sim 5000 Biomedica с допплеровской приставкой Алоса-2000), сцинтиграфию миокарда для выявления дефекта перфузии и диагностики постинфарктного кардиосклероза. Содержание кислорода в артериальной крови, у больных ДКМП, ИКМП проводили методом пульсометрии, определяли содержание кислорода (PaO_2) мм рт. ст. Пульсометрия является неинвазивным методом измерения содержания кислорода у больных [13]. При наличии перфузии подтверждали диагноз ДКМП. С помощью шкалы оценки клинического состояния (ШОКС) определяли функциональный класс ХСН согласно критериям Нью-Йоркской ассоциации 2003 г. Изучали ударный объем, конечные систолические и диастолические объемы и размеры, толщину задней стенки левого желудочка, межжелудочковой перегородки, фракцию выброса. Для исключения значимых стенозов венечных (коронарных) артерий проводили сцинтиграфию. При наличии постинфарктного кардиосклероза выставляли ИКМП, а при отсутствии – ДКМП. Анализ данных выполнен методом медико-биологической статистики с использованием программы SPSS, проверкой нормальности распределения с использованием теста Колмогорова-Смирнова. Для выполнения межгрупповых сравнений применяли однофакторный дисперсионный анализ Стьюдента, для множественных сравнений использовали поправку Бонферрони. Проводили дифференциальный анализ, исключая истинную полицитемию при отсутствии характерных для полицитемии симптомов (эритроцитоз, тромбоцитоз, лейкоцитоз, спленомегалия, снижение СОЭ до 1-2 мм), а также исключали вторичные эритроцитозы у злостных курильщиков, гипертоническую болезнь, заболевания легких, синдром Пиквика, стрессы. То есть исключали ситуации, при которых формируется вторичный эритроцитоз [8-12].

Клиническая характеристика больных ДКМП и ИКМП с эритроцитозом и без эритроцитоза. Все 54 (100%) больных ДКМП предъявляли жалобы на утомляемость, одышку 50 (92,5 %), сердцебиения 30 (54,4 %), кашель 20 (40 %), ортопноэ 40 (80 %). При ИКМП наблюдалась слабость, утомляемость у всех 84 (100%) больных с эритроцитозом и без эритро-

DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-222-227

цитоза, кашель, сердцебиения, ортопноэ у 42 (50 %) пациентов. Тяжесть состояния у всех пациентов с ДКМП и с ИКМП с эритроцитозом и без эритроцитоза оценивали по классификации ХСН ФК III, IV (Nyna). Клиническое обследование выявило застой в легких у всех 54 (100 %) больных с ДКМП и 70 (83,3 %) при ИКМП. У больных с ДКМП и ИКМП с эритроцитозом и без эритроцитоза наблюдалась гепатомегалия. Анализ данных клинической картины показал, что у больных ДКМП и ИКМП заболевание развивалось постепенно. Появились кожный зуд, колющие боли в кончиках пальцев рук и ног, неврологические нарушения (нарушение сна, головные боли, чувство холода). При осмотре обращали внимание на наличие цианоза лица, носа, ушей, кистей рук, синюю окраску губ, на гиперемию склер («кошачьи глаза»), асцита, отеков нижних конечностей, наличие расширения поверхностных вен брюшной стенки. У всех больных установлен гипокинетический тип кровообращения: глухость сердечных тонов, нарушения ритма у 27 (50%) при ДКМП, у 28 (33,3 %) при ИКМП. Рентгенография подтверждала наличие у всех больных кардиомегалии, венозного застоя, плеврального выпота. Анализ основных лабораторных данных исследований выявил эритроцитоз при ДКМП 5,279±0,359x10^{12}/л, при ИКМП 5,38±0,31x10^{12}/л. Показатели гемоглобина, лейкоцитов, нейтрофилов, эозинофилов, моноцитов, лимфоцитов, были в пределах нормы (табл. 1). Минимальное содержание эритроцитов при ДКМП составило 4,9x10^{12}/л, максимальное – 6,30x10^{12}/л, при ИКМП – минимальное содержание эритроцитов – 5,03x10^{12}/л, а максимальное – 6,35 (табл. 2).

Показатели сывороточного железа были в пределах нормальных колебаний, а содержание ферритина оказались достоверно выше контроля.

Анализ состояния центральной и внутрисердечной гемодинамики выявил у пациентов ДКМП с эритроцитозом и без него значимое снижение ударного объема (табл.3), фракции выброса (ФВ), увеличение конечных систолического и диастолического объемов, (КСО, КДО), конечных систолического и диастолического размеров (КСР. КДР), а также левого и правого предсердий (ЛП, ПП) и уменьшение толщины межжелудочковой перегородки (ТМЖП). Все данные центральной и внутрисердечной гемодинамики у больных с ДКМП с эритроцитозом и без эритроцитоза в обеих группах статистически значимо не отлича-

Таблица 1

Основные гематологические показатели у больных дилатационной и ишемической кардиомиопатией.

Показатели	Контроль *n*=30 m±б	ДКМП *n*=35 m±б	ИКМП *n*=34 m±б	Значимость		
				1	2	3
Эритроциты, x10^{12}/л	4,6±0,09	5,27±0,359	5,38±0,31	0,000	0,000	0,100
Гемоглобин, г/л	131,5±1,60	125,6±1,02	127,31±1,20	0,000	0,000	1,000
Лейкоциты, x10^{9}/л	5,14±0,25	3,27±0,30	7,06±0,30	0,000	0,000	0,000
Цветовой показатель	0,90±0,04	0,9±0,01	0,70±0,08	0,100	0,000	0,100
Нейтрофилы: п/я + с/я, % Гранулоциты	62,38±0,78	66,44±0,01	64,89±0,01	0,000	0,000	0,100
Эозинофилы, %	3,00±1,07	3,29±0,30	5,48±1,00	0,100	0,000	0,100
Моноциты, %	7,52±0,07	9,37±0,08	5,62±0,01	0,000	0,100	0,000
Лимфоциты, %	27,1±0,07	20,9±0,08	24,01±0,07	0,000	0,000	0,000
Тромбоциты, x10^{9}/л	267±11,35	230,2±10,50	217,09±0,60	0,000	0,000	0,100
Сывороточное железо, мкмоль/л	14,50±0,70	12,50±0,37	13,5±0,03	0,100	0,100	0,100
Фибриноген, г/л	3,02±0,07	3,35±1,26	2,23±1,0	0,100	0,100	0,100
Ферритин, мкг/л	60,8±14,2	78,01±0,55	76,02±0,44	0,000	0,000	0,100
РФМК, x10^{3}	3,0±1,10	5,42±2,80	4,62±1,82	0,000	0,100	1,000
PaO_2, мм рт. ст.	75,4±0,93	60,7±1,24	59,6±1,24	0,000	0,000	1,000

Примечание. 1 – статистическая значимость показателей ДКМП с контролем. 2 – статистическая значимость различий показателей ИКМП с контролем. 3 – статистическая значимость различий показателей при ДКМП и ИКМП.

Таблица 2

Сравнительные показатели эритроцитов: минимум, максимум у больных дилатационной и ишемической кардиомиопатиями

Группы	Число эритроцитов, 10^{12}/л	Минимум, 10^{12}/л	Максимум, 10^{12}/л	m±б	Значимость, *p*	Доверительный интервал для среднего	
						Нижняя граница	Верхняя граница
ДКМП, *n*=35	5,279±0,359	4,90	6,30	5,279±0,359	0,000	5,15559	5,4030
ИКМП, *n*=34	5,3879	5,03	6,35	5,38±0,324	0,000	5,2747	5,5012

Таблица 3

Показатели центральной и внутрисердечной гемодинамики у больных с дилатационной кардиомиопатией с эритроцитозом и без эритроцитоза

Показатели	**Контроль *n*=30 m±б**	**ДКМП с эритроцитозом *n*=35**	**ДКМП без эритроцитоза *n*=19**	**Значимость отклонения, *p***		
				1	**2**	**3**
АД, мм рт. ст.	99,51±1,60	90,60±1,55	88,02±1,60	,000	,000	1,000
УО, мл	78,41±2,70	70,643±17,19	72,57±18,03	,000	,000	1,000
КСО, мл	29,26±0,22	145,13±46,01	161,63±49,55	,000	,000	1,000
КДО, мл	88,46±0,24	216,22±52,52	235,47±59,03	,000	,000	1,000
КДР, мм	43,02±0,20	66,03±7,91	68,12±7,84	,000	,000	1,000
КСР, мм	31,00±0,01	55,73±8,50	57,82±8,2	,000	,000	1,000
ФВ, %	69,4±1,00	33,51±6,87	31,57±7,41	,000	,000	1,000
ЛП, мм	30,01±1,15	49,84±9,39	50,78±7,52	,000	,000	1,000
ПП, мм	35,00±0,09	49,83±9,91	48,71±9,89	,000	,000	1,000
ТМЖП, мм	8,01±0,04	9,60±1,69	9,77±1,16	,000	,000	1,000
ТЗСЛЖ, мм	10,16±0,14	9,81±1,30	9,43±1,16	1,000	1,000	1,000
ОПС,	125,66±8,10	2,80±0,14	2,92±0,12	0,01	0,001	
СИ, л/м^2	3,81±0,23	2,80±0,14	2,92±0,12			

Примечание. Достоверность различий: 1 – группа больных ДКМП с эритроцитозом и группой здоровых лиц; 2 – группа больных ДКМП без эритроцитоза и группой здоровых лиц; 3 – группа больных ДКМП с эритроцитозом и без эритроцитоза.

Таблица 4

Показатели центральной и внутрисердечной гемодинамики у больных с ишемической кардиомиопатией с эритроцитозом и без эритроцитоза

Показатели	**Контроль *n*=30, M±б**	**ИКМП с эритроцитозом *n*=34, M±б**	**И КМП без эритроцитоза *n*=50, M±б**	**Значимость отклонения, *p***		
				1	**2**	**3**
АД, мм рт. ст.	99,51±1,60	92,05±0,13	98,052±0,601	0,000	0,000	0,000
УО, мл	78,41±2,70	79,276±16,951	77,982±17,240	1,000	1,000	1,000
КСО, мл	29,26±0,22	139,467±32,24	147,580±53,547	0,000	0,000	1,000
КДО, мл	88,46±0,24	220,167±39,001	226,825±52,667	0,000	0,000	1,000
КДР, мм	43,02±0,20	64,520±5,706	65,934±6,872	0,000	0,000	1,000
КСР, мм	31,00±0,01	52,875±5,551	54,410±8,046	0,001	0,001	1,000
ФВ, %	69,40±1,00	36,471±6,734	34,596±7,948	0,000	0,000	1,000
ЛП, мм	30,01±1,15	51,176±9,179	51,316±10,021	0,000	0,000	1,000
ПП, мм	35,00±0,09	47,714±9,624	48,0,17±10,174	0,000	0,000	1,000
ТМЖП, мм	8,01±0,04	10,42±1,620	10,017±2,26	0,000	0,001	1,000
ТЗСЛЖ, мм	10,16±0,14	10,21±1,6,34	10,50±2,11	1,000	1,000	1,000

Примечание. Достоверность различия: 1 – группа больных ИКМП с эритроцитозом и группой здоровых лиц; 2 – группа больных ИКМП без эритроцитоза и группой здоровых лиц; 3 – группа больных ИКМП с эритроцитозом и без эритроцитоза.

лись. В группах больных с ИКМП с эритроцитозом и без эритроцитоза установлено значимое снижение ударного объема (УО), увеличение конечного систолического и диастолического объемов (КСО, КДО), конечного систолического и диастолического размеров (КДР, КСР), снижение фракции выброса (ФВ), размеров правого и левого предсердий, толщины межжелудочковой перегородки (ТМЖП), толщины задней стенки левого и правого желудочков (ТЗСЛЖ). Показатели центральной и внутрисердечной гемодинамики у больных ИКМП с эритроцитозом и без эритроцитозов статистически не различались (табл. 4). У исследуемых больных ДКМП и ИКМП подтверждены симптомы ХСН III-IVфункционального класса: одышка в покое, акроцианоз, ортопноэ, набухание вен, увеличение печени, застойные хрипы в легких, отеки нижних конечностей, отклонение левой границы сердца, глухость тонов, систолический шум на верхушке, нарушение ритма, кардиомегалия, гипокинетический тип кровообращения.

Результаты пульсометрии показали снижение кислорода в артериальной крови больных ДКМП до 60,7±1,24 мм рт. ст., при ИКМП – 59,6±1,24 мм рт. ст. (p<0,001), у здоровых более 75,44±0,93 мм рт. ст.

Обсуждение. Таким образом, дефицит кислорода в крови, генерализованная тканевая гипоксия свидетельствуют о гипоксии сердца, дыхательной недостаточности, легочной гипертензии [14-16]. Дефицит кислорода наблюдается и при тромбоцитемиях, идиопатическом эритроцитозе. При изолированном гипоксическом эритроцитозе у больных ДКМП, ИКМП с ХСН формируется клеточно-тригерный механизм, который всегда сопровождается воспалительной реакцией, и относится к последнему этапу компенсации. У больных с ДКМП и ИКМП необходимо также исследовать содержание сывороточного железа и ферритина, потому что снижение показателей сывороточного железа и увеличение сывороточного ферритина всегда свидетельствует об активности реакции воспаления [16-21,23-25]. Тщательный анализ этиологии, патогенеза эритроцитозов позволит избежать опасных оценок эритроцитозов, гипердиагностики истинной полицитемии, влияющих на лечение и прогноз заболеваний с тканевой компенсаторной гипоксией.

Для подтверждения реактивного гипоксического, изолированного эритроцитоза, у больных ДКМП и ИКМП, применяли критерии ВОЗ (2008 г.). Для истинной полицитемии характерно наличие морфологической, трехлинейной миелопролиферации: эритроцитоз, лейкоцитоз, тромбоцитоз, увеличение селезенки, снижение СОЭ до 1 мм/час, увеличение содержания ферритина. Отсутствие повышенной клеточности, трехростковой гиперплазии, выраженного сдвига влево в нейтрофильном гранулоцитопоэзе позволяет исключить эритремический вариант первичного миелофиброза [8-10, 20]. Снижение содержания кислорода в артериальной крови подтверждает наличие изолированного гипоксического эритроцитоза у этого контингента больных.

Корреляционный анализ показал наличие положительной прямой взаимозависимости показателей гемоглобина и эритроцитов (r=0,62, p=0,001), эритроцитов и ферритина (r=0,38, p=0,02), эритроцитов и нейтрофилов (r=0,52, p=-0,025), эритроцитов и тромбоцитов (r=-0,015, p=0,01), тромбоцитов и растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) (r=-0,025, p=0,02).

Таким образом, тщательный клинико-этиопатогенетический анализ особенностей эритроцитозов у больных ДКМП и ИКМП, позволяет диагностировать эритроцитозы, влияющих на прогноз заболевания. Полученные нами результаты исследований, позволили подтвердить, что гипоксические компенсаторные эритроцитозы являются следствием воспалительной реакции и относятся к последнему этапу компенсации с неблагоприятным жизненным прогнозом.

Выводы.

Результаты исследования показали, что у пациентов ДКМП, ИКМП с ХСН III-IV ФК эритроцитозы значимого влияния на процессы ремоделирования сердечно-сосудистой системы не оказывают, и являются патогенетическим следствием основных заболеваний.

У больных ДКМП, ИКМП с ХСН III-IV ФК с эритроцитозом не установлено трехлинейной миелоидной пролиферации (эритроцитоз, лейкоцитоз, гипертромбоцитоз), снижения СОЭ до 1-2 мм/час, спленомегалии, плеторического и эритродермического синдрома, что позволяет исключить истинную полицитемию у этого контингента больных.

У больных ДКМП, ИКМП с ХСН III-IVФК наблюдается дефицит кислорода в артериальной крови (PaO_2 <60,7 мм рт.ст. при ДКМП и 59,6 мм рт. ст. при ИКМП, у здоровых – 75,4±0,93 мм рт. ст.), что приводит к развитию абсолютного гипоксемического эритроцитоза у этих пациентов.

Финансирование. *Исследование не имело спонсорской поддержки.*

Конфликт интересов. *Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов*.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1, 7, 11, 14-19, 21-24 см. REFERENCES)

2. Арутюнов А.Г., Драгунов Д.О., Арутюнов Г.П. и др. Влияние основных факторов у пациентов на прогноз при декомпенсации сердечной недостаточности. *Кардиология.* 2014; 54 (12): 37-43.
3. Терещенко С.Н., Жиров И.В. Причина развития анемий у пациентов с хронической сердечной недостаточностью. *Кардиология*. 2011; 51 (5): 20-36.
4. Чепурная А.Н.., Никуличева В.И., Сафуанова Г.Ш. Гемическая кардиомиопатия у больных железодефицитной анемией. *Медицинский вестник МВД*. 2016; 5: 11-6.
5. Чепурная А.Н., Никуличева В.И., Загидуллин И.М. и др. Анемия хронических заболеваний у пациентов с дилатационной и ишемической кардиомиопатией. *Казанский медицинский журнал*. 2018; 99 (4): 617-24.
6. Зубрихина Г.Н., Блиндарь В.Н., Матвеева Л.И. Дифференциальная диагностика анемического синдрома при истинном железодефицитном состоянии и функциональном дефиците железа у больных хроническими заболеваниями (злокачественными заболеваниями). *Терапевтический архив*. 2016; 4: 61-7.
8. Абдулкадыров К.М., Руковицын О.А., Шилова Е.Г., Удальева В.Ю. Гематологические синдромы в общей клинической практике. СПб. :Специальная литература, ЭЛБИ; 1999.
9. Коцюбинский Н.Н., Максимов А.Г. Вторичные абсолютные эритроцитозы. В кн.: Клиническая гематология. Богданов А.Н., Мазуров В.И., ред. СПб.: Фолиант; 2008.
10. Поп В.П. Истинная полицитемия. В кн.: Гематология. Руковицын О.А., ред. М.: «ГЕОТАР-Медиа»; 2015.
12. Чепурная А.Н., Никуличева В.И., Загидуллин И.М., Лехмус Т.Ю. и др. Анемия хронических заболеваний у пациентов дилатационной и ишемической кардиомиопатиями. *Казанский медицинский журнал*. 2018; 99 (4): 617-24.
13. Авдеев С.Н. Хроническая обструктивная болезнь лёгких. М.: Атмосфера; 2010.
20. Демидова А.В., Хорошко Н.Д. Эритремия и эритроцитозы. В кн.: Руководство по гематологии. Воробьев А.Н., ред. М.: «Ньюдиамед»; 2003.

REFERENCES

1. Elliot P., Anderson B., Arbustini E. et al. Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the European society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Dieseases. *Eur. Heart J.* 2008; 29(2): 270-6. DOI: 10.1093 eurheartj/ehm 342.
2. Arutyunov A.G., Dragunov D.O., Arutyunov G.P., et al. Major risk factors of patients' on prognosis in decompensation of heart failure. *Kardiologiya*. 2014; 54(12): 37-43. (in Russian)
3. Tereshchenko S.N., Zhirov I.V. Analysis of causes of development of anemia in patients with chronic heart failure. *Kardiologiya*. 2011; 51(5): 20-36. (in Russian)
4. Chepurnaya A.N., Nikulicheva V.I., Safuanova G.Sh. Hemic cardiomyopathy in patients with iron deficiency. *Meditsinskiy vestnik MVD.* 2016; (5): 11-6. (in Russian)

5. Chepurnaya A.N., Nikulicheva V.I., Zagidullin I.M., et al. Anemia of chronic diseases in patients with dilated and ishaemic cardiomyopathy. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2018; 99(4): 617-24. DOI: 10.17816/KMJ 2018 – 617.624. (in Russian)
6. Zubrikhina G.N., Blindar V.N., Matveeva L.I. Differential diagnosis of anemia in true and functional iron deficiency in patients with chronic diseases (malignant tumours). *Terapevticheskiy arkhiv*. 2016; 4: 61-7. (in Russian)
7. Lu K., Kearney L., Hare D. et al. Cardiorenal anemia syndrome as a prognosticator for death in patients with heart failure. *Am. J. Cardiol*. 2014; 5: 22-8.
8. Abdulkadyrov K.M., Rukovitsyn O.A., Shilova E.G., Udalyeva V.Y. Hematological syndromes in general clinical practice. St.Petersburg: Spetsial´naya literatura ELBI; 1999. 89-92. (in Russian)
9. Kotsyubinskiy N.N., Maksimov A.G. Secondary absolute erythrocytosis. In book: Klinicheskaya gematologiya. Bogdanov A.N., Mazurov V.I., eds. St. Petersburg: Foliant; 2008. 313-4. (in Russian)
10. Pop V.P. Polycythemia vera. In book: Gematologiya. Rukovitsyna O.A., ed. Moscow: GEOTAR-Media; 2005. 337-45. (in Russian)
11. Marchioli R., Finazzi G., Specchia G. et al. Cardiovascular events and intensity of treatment in polycythemia vera. *N. Engl. J. Med.* 2013; 368.(1): 22-3.
12. Chepurnaya A.N., Nikulicheva V.N., Zagidullin I.M. Lekhmus T.Y. et al. Anemia of chronic diseases in patients with dilated and ishaemic cardiomyopathy. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2018; 99 (4): 617-24. DOI: 10.17816/KMJ 2018 – 617.624. (in Russian)
13. Avdeev S.N. Chronic obstructive pulmonary disease. Moscow: Atmosphera; 2010: 52-4. (in Russian)
14. Barbu T., Barosi G., Birgegard G. et al. Philadelphia-negative classical myeloproliferative neoplasms: critical concepts and management recommendations from European Leukemia Net. *J. Clin Oncol*. 2011; 29: 761-70.
15. Marchioli R., Finazzi G., Landolli F. et al. Vascular and neoplastic risk in a large cohort of patients with polycythemia vera. *J. Clin. Oncol*. 2005; 23: 2224-32.
16. Barosi G., Mesa R., Finazzi G., et al. Revised response criteria for polycythemia vera and essential trombocythemia: an ELN and IWG-MRT consensus project. *Blood*. 2013; 121 (23): 4778-81.
17. Passamonti F. How I treat polycythemia vera. *Blood*. 2012; 120 (2): 275-84.
18. Mc Mullin M.F. Idiopathic erythrocytosis: a disappearing entity. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program*. 2009; 629-35.
19. Hasselbalch H.C. Perspectives on chronic inflammation in essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myelofibrosis: is chronic inflammation a trigger and driver of clonal evolution and development of accelerated atherosclerosis and second cancer? *Blood*. 2012; 119 (14): 3219-25.
20. Demidova A.V., Khoroshko N.D. Polycythemia vera and erythrocytosis. In: [Rukovodstvo po gematologii]. Vorob´ev A.N., ed. Moscow: Newdiamed; 2003; 21-7. (in Russian)
21. Green A.R. Pathogenesis and management of essential thrombocythemia. Haematologica. 1999; 84 (EHA . 4nd ed.): 38-9.
22. Michels J.J., Barbu T., Finazzi G. et al. Diagnosis and treatment of polycythemia vera and possible future study design of the PVSG. *Leuk. Lymph*. 2000; 36 (3-4): 230-53.
23. Hausmann E., Bremer K. Effectiveness of interferon-alpha in polycythemia vera. A. Prospective Analis. *Brit. J. Haematol*. 1996; 93: 85.
24. Tefferi A., Soiberg L., Silverstein M.N. A. Clinical in polythrombocythemia vera. *Amer. J. Med.* 2000; 109 (2): 141-9.

Поступила 11.01.20
Принята к печати 15.01.20

ЦИТОЛОГИЯ

КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Славнова Е.Н., Сарибекян Э.К., Суркова В.С., Ортабаева Д.Р., Горюшкина О.Б., Петров А.Н.

КОМПЛЕКСНАЯ МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ (ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ, ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ) ДИАГНОСТИКА ДЕСМОИДНОЙ ФИБРОМЫ, АССОЦИИРОВАННОЙ С ИМПЛАНТАТОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (СЛУЧАЙ ИЗ ПРАКТИКИ)

Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава РФ, 125284, Москва, Россия

Представлено редкое клиническое наблюдение десмоидной фибромы, ассоциированной с имплантатом молочной железы. При постановке морфологического (цитологического, гистологического) диагноза на светооптическом уровне до операции дифференциальный морфологический диагноз проводили между рубцовыми изменениями, стромальным компонентом филлоидной опухоли и десмоидной фибромой. Только проведение иммуногистохимии позволило установить диагноз десмоидной фибромы, так как опухолевые клетки экспрессировали диффузно SMA, очагово десмин, и самое главное в части клеток наблюдалась экспрессия ß-катенина.

Ключевые слова*: десмоидная фиброма; цитология; гистология; иммуногистохимия; имплантат; молочная железа.*

Для цитирования: *Славнова Е.Н., Сарибекян Э.К., Суркова В.С., Ортабаева Д.Р., Горюшкина О.Б., Петров А.Н. Комплексная морфологическая (цитологическая, гистологическая) диагностика десмоидной фибромы, ассоциированной с имплантатом молочной железы (случай из практики). Клиническая лабораторная диагностика. 2020; 65(4): 228-230. DOI: http: //dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-228-230*

Slavnova E.N., Saribekyan E.K., Surkova V.S., Ortabaeva D.R., Goryushkina O.B., Petrov A.N.

COMPLEX MORPHOLOGICAL (CYTOLOGICAL, HISTOLOGICAL) DIAGNOSTICS OF DESMOID FIBROMA ASSOCIATED WITH A BREAST IMPLANT (CASE REPORT FROM PRACTICE)

P.Hertsen's Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Centre of Radiology of the Ministry of Public Health of Russian Federation

A rare clinical observation of desmoid fibroma associated with a breast implant is presented. When making a morphological (cytological, histological) diagnosis at the light-optical level before surgery, a differential morphological diagnosis was performed between cicatricial changes, the stromal component of the phyloid tumor and desmoid fibroma. Only immunohistochemistry allowed us to establish a diagnosis of desmoid fibroma, since tumor cells expressed diffusely SMA, focally desmin, and most importantly, ß-catenin expression was observed in some cells.

Keywords: *desmoid fibroma; cytology; histology; immunohistochemistry; implant; mammary gland.*

For citation: *Slavnova E.N., Saribekyan E.K., Surkova V.S., Ortabaeva D.R., Goryushkina O.B., Petrov A.N. Комплексная морфологическая (цитологическая, гистологическая) диагностика десмоидной фибромы, ассоциированной с имплантатом молочной железы (случай из практики). Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2020; 65 (4): 228-230 (in Russ.). DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-228-230*

For correspondence*: Slavnova E.N.,* Doctor of Medical Sciences, lead researcher of the department of cytology; e-mail: slavnov@rambler.ru

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Conflict of interests. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Received 14.02.2020
Accepted 23.02.2020

Введение. Десмоидная фиброма (или агрессивный фиброматоз) – это редкая фибробластическая опухоль, впервые описанная J. Macfarlane в 1832 г. [1]. Этот термин (от греч. «desmos» – ленточный, сухожильный) впервые был использован Müller в 1838 г. для описания опухолей сухожильного типа. Десмоидные фибромы – это опухоли мезинхимальной природы, которые относятся к классу пограничных опухолей, так как не метастазируют, однако склонны к агрессивному местному росту и частому рецидивированию [2]. Десмоидные фибромы называют также глубоким фиброматозом, так как обычно они происходят из более глубоких апоневротических структур в отличие от поверхностных фиброматозов, развивающихся из поверхностных фасциальных структур конечностей (болезни Dupuytren, Ledderhose, Peyronie). Десмоидные опухоли всегда ограничены мускулатурой и вышележащим апоневрозом фасции, диаметр поражения варьирует от 5 до 20 см [3]. Макроскопически опухоль твердая, плотной консистенции, на разрезе имеет белую, блестящую, напоминающую

Для корреспонденции: *Славнова Елена Николаевна*, д-р мед. наук, цитолог, вед. науч. сотр. отд-ния онкоцитологи; e-mail: slavnov@rambler.ru

рубцовую ткань поверхность [4]. Десмоидные опухоли очень похожи на фибросаркому; неадекватная биопсия образца ткани может непреднамеренно привести к диагнозу фибросаркомы [5]. Десмоидные фибромы могут развиваться из мышечно-апоневротических структур практически любой анатомической области тела, включая брюшную стенку, грудную стенку, конечности, шею; в ряде случаев наблюдается мультифокальный рост опухолей.

В зависимости от локализации выделяют:

– абдоминальные десмоидные фибромы (опухоли передней брюшной стенки);

– интраабдоминальные (опухоли забрюшинного пространства);

– экстраабдоминальные (опухоли туловища, конечностей);

– мультифокальные (множественные опухоли различных локализаций).

Возникают десмоидные фибромы в любом возрасте, могут быть даже врожденными, но появляются главным образом в возрасте 20-40 лет у рожавших женщин. Иногда десмоидные фибромы развиваются в операционном рубце или им предшествуют травмы. Очень часто возникают диагностические трудности, особенно при экстраабдоминальных десмоидах, так как они клинически, а иногда морфологически могут напоминать фиброму, либо фибросаркому.

Патогенез десмоидной фибромы многофакторный и включает генетические, эндокринные и физические факторы. Десмоидные фибромы абдоминальной локализации зачастую развиваются у женщин после беременности или кесарева сечения. Интраабдоминальные десмоидные фибромы чаще всего сочетаются с полипозом толстой кишки (синдрома Гарднера). Большинство пациентов с десмоидными фибромами экстраабдоминальной локализации связывают появление опухоли с предшествующей травмой (в частности с операцией) [6].

Десмоидные фибромы составляют 0,2% от всех опухолей молочной железы [7]. Десмоиды молочной железы встречаются у женщин в возрасте от 13 до 80 лет [8]. Чаще всего десмоидные фибромы молочной железы имеют односторонний характер поражения, в 4% случаев встречается билатеральное поражение [9]. 5-летняя общая выживаемость при десмоиде молочной железы составляет 93%, при этом 5-летняя частота рецидивов, несмотря на радикальное хирургическое удаление, составляет 29% [10]. Десмоидные фибромы молочной железы могут возникать в основном из паренхимы молочной железы или путём вторичной инвазии из мышечно-апоневротического слоя передней грудной стенки. Это различие имеет решающее значение, поскольку десмоиды, возникающие из мышечно-апоневротических структур, имеют более высокую частоту рецидивов (51% против 21%) В последнее время рядом исследователей сделано предположение, что наличие силиконовых имплантатов молочной железы является фактором риска развития десмоидной фибромы. [11].

Клиническое наблюдение. Больной В., 30 лет, 20.03.2018 г. в г. Минске выполнена двухсторонняя аугментация молочных желёз силиконовыми имплантатами Motiva Ergonomix Round Silksurface 355 мл. В марте 2019 г. пациентка отметила появление чувства дискомфорта в области правой субмамамарной складки. Обратилась в Московский научно-исследовательский институт им П.А. Герцена.

По данным УЗКТ и МРТ молочных желез по нижнему контуру имплантата правой молочной железы в ретромаммарной складке на уровне послеоперационного рубца гипоэхогенное неровное образование с четкими бугристыми контурами (по данным МРТ – 38х27х26 мм, КТ – 30х42х25 мм).

Выполнена трепан-биопсия новообразования. Материал отправлен на цитологическое и гистологическое исследование. Исследованы цитологические отпечатки с трепан-биоптата. Цитологическая картина характеризовалась бедностью клеточных элементов (рис.1, см.обложку). Фон препарата розовато-фиолетовый с небольшими более плотными участками темно-фиолетового цвета. Клетки опухоли мелких и средних размеров располагались одиночно и встречались не в каждом поле зрения. Ядра клеток преимущественно овальной и вытянутой формы, местами палочковидные с равномерным рисунком хроматина и одиночными ядрышками. Митозы не встречались. Цитоплазма клеток вытянутая, хвостатая, местами относительно широкая, в отдельных клетках границы цитоплазмы едва различались (рис.2, см.обложку). В некоторых опухолевых клетках цитоплазма была окрашена слабо базофильно, либо оставалась неокрашенной, в единичных более крупных клетках в цитоплазме обнаруживались мелкие вакуоли. Несмотря на отсутствие эпителиальных клеток цитологом было высказано предположение, что материал для цитологического исследования получен из стромального компонента филлоидной (листовидной) опухоли.

При гистологическом исследовании биоптата опухоли микроскопически обнаружена грубоволокнистая соединительная ткань с мономорфными равномерно распределенными фибробластоподобными веретеновидными и звездчатыми клетками (рис.3, см.обложку). В интерстиции определялись тонкостенные, расширенные сосуды. Митотическая активность клеток образования не выявлялась.

Гистологическое заключение не давало однозначной картины, поскольку морфологическая картина могла соответствовать рубцовым изменениям, десмоидному фиброматозу или представлять собой стромальный компонент филлоидной (листовидной) опухоли. Для уточнения диагноза была необходима иммуногистохимия.

При проведении иммуногистохимии обнаружена диффузная экспрессия SMA (рис.4, см.обложку), очаговая десмина, в части клеток экспрессия β -катенина. CD34, S100 – экспрессия отрицательная. Только после проведения иммуногистохимии поставлено заключение морфологическая картина и иммунофенотип образования, более всего соответствуют десмоидному фиброматозу.

Данной больной проведена операция 05.09.2019 г. в объеме резекции передней грудной стенки справа и удаления имплантатов молочных желёз.

После операции макроскопически в толще межреберных мышц с врастанием в капсулу эндопротеза и подкожную жировую клетчатку определялся плотноэластичный опухолевый узел, серого цвета, солидного строения, волокнистого вида, размерами 3,5х4х3.5см. (рис.5, 6, см.обложку).

Послеоперационное гистологическое исследование – десмоидная фиброма мягких тканей передней грудной стенки справа.

Заключение. Данный клинический пример представляет собой редкое клиническое наблюдение дес-

моидной фибромы, ассоциированной с имплантатом молочной железы. Трудности предоперационной цитологической и гистологической диагностики объяснялись редкостью клинического наблюдения. При постановке морфологического (цитологического, гистологического) диагноза на светооптическом уровне до операции дифференциальный морфологический диагноз проводили между рубцовыми изменениями, стромальным компонентом филлоидной (листовидной) опухоли и десмоидной фибромой. Только проведение иммуногистохимии позволило до операции установить диагноз десмоидной фибромы, так как опухолевые клетки экспрессировали диффузно SMA, очагово десмин, и самое главное в части клеток наблюдалась экспрессия ß-катенина. В данном случае выбор адекватного объема хирургического вмешательства зависел от правильной дооперационной диагностики, которая возможна только при комплексном цитологическом и гистологическом исследовании, а также применении иммуногистохимии.

Финансирование. *Исследование не имело спонсорской поддержки.*

Конфликт интересов: *Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Kabiri E.H., Al Aziz S., El Maslout A., Benosman A. Desmoid tumors of the chest wall. *Eur. J. Cardiothorac Surg.* 2001 May;19(5): 580-3.
2. WHO Classification of Tumours of Soft Tissue and Bone. Fletcher C.D.M., Bridge J.A., Hogendoom P.C.W., Mertens F., eds. Lyon: IARC; 2013.
3. Hartley J.E., Church J.M., Gupta S., McGannon E., Fazio V.W. Significance of incidental desmoids identified during surgery for familial adenomatous polyposis. *Dis. Colon. Rectum*. 2004; 47(3): 334-8.
4. Weiss S.W., Goldblum J.R., eds. Fibromatoses. In book: Enzinger and Weiss's Soft Tissue Tumors. 4th ed. Mosby, Inc: St. Louis; 2001: 309–46.
5. Mendenhall W.M., Zlotecki R.A., Morris C.G., Hochwald S.N., Scarborough M.T. Aggressive fibromatosis. *Am. J. Clin. Oncol*. 2005; 28(2): 211-5.
6. Escobar C., Munker R., Thomas J.O., Li B.D., Burton G.V. Update on desmoid tumors. Ann. Oncol. 2012; 23(3): 562-9.
7. Shields C.J., Winter D.C., Kirwan W.O., Redmond H.P. Desmoid tumours. Eur. *J. Surg. Oncol*. 2001; 27(8): 701-6.
8. WHO Classification of Tumours of the Breast. Lakhani S.R., Ellis I. O., Schnitt S.J., Tan P.H., Van de Vijver M.J. , Eds. Lyon: IARC; 2012.
9. Schwarz G.S., Drotman M., Rosenblatt R., Milner L., Shamonki J., Osborne M.P. Fibromatosis of the breast: case report and current concepts in the management of an uncommon lesion. *Breast J.* 2006; 12(1): 66-71.
10. Varghese T.K. Jr., Gupta R., Yeldandi A.V., Sundaresan S.R. Desmoid tumor of the chest wall with pleural involvement. *Ann. Thorac. Surg.* 2003; 76 (3): 937-9.
11. Tzur R., Silberstein E., Krieger Y., Shoham Y., Rafaeli Y., Bogdanov-Berezovsky A. Desmoid Tumor and Silicone Breast Implant Surgery: Is There Really a Connection? A Literature Review. *Aesthetic Plast Surg.* 2018 Feb;42(1): 59-63.

Поступила 14.02.20
Принята к печати 23.02.20

ИММУНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Лахтин М. В., Лахтин В. М., Миронов А. Ю., Алёшкин В. А., Афанасьев С. С.

ЛЕКТИНОВЫЕ СУПЕРСИСТЕМЫ ЧЕЛОВЕКА С ПРОБИОТИЧЕСКИМ И ЗАЩИТНЫМ ДЕЙСТВИЕМ

ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского» Роспотребнадзора, 125212, Москва, Россия

Оценён потенциал полезных для человека суперсистем лектинов (ССЛ) иммунобиологического надзора – распознающих углеводы и гликоконъюгаты молекулярных или надмолекулярных пептидсодержащих составляющих содержимого биотопов. ССЛ распознают, обратимо связывают, доставляют в биотопы, ориентируют на поверхности клеток природные и синтетические полимерные, поливалентные гликоконъюгаты (имитаторы природных гликополимеров). Описаны ключевые свойства ССЛ. Оценены возможности применения и перспективы ССЛ пробиотиков, C_4-компонента комплемента, белковых гормонов (на примере эритропоэтинов) в прогнозе и диагностике патологии, лечении и профилактике болезней, медицинской биотехнологии.

Ключевые слова: *иммунобиологический надзор; системы лектинов; гликоконъюгаты, комплемент; белковые гормоны; пробиотики; человек; профилактика; терапия; прогноз риска болезней; диагностика болезней; медицинская биотехнология.*

Для цитирования: *Лахтин М. В., Лахтин В. М., Миронов А. Ю., Алёшкин В. А., Афанасьев С. С. Лектиновые системы человека с пробиотическим и защитным действием. Клиническая лабораторная диагностика. 2020; 65 (4): 231-238. DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2020-65-4-*

Lakhtin M. V., Lakhtin V. M., Mironov A. Yu., Aleshkin V. A., Afanasiev S. S.

THE HUMAN LECTIN SUPERSYSTEMS POSSESSING PROBIOTIC AND PROTECTIVE ACTIONS

G.N. Gabrichevsky Reseach Institute for Epidemiology & Microbiology, Moscow, Russia

The potential of useful for human immunobiological supersystems of lectins (SSL) recognizing carbohydrates and glycoconjugates of molecular or supramolecular protein/(oligo)peptide-containing constituents of biotopes is described. SSL recognize, reversibly bind, delivery to biotopes, orient natural or synthetic polymeric, polyvalent glycoconjugates (imitators of natural glycopolymers) at the cell surface. The key features of SSL are indicated and described. The possibilities of application and prospects of SL of probiotics, complement C_4 system and protein hormones (on example of erythropoietins) in prognostics and diagnostics of pathologies, prophylaxis and therapy of diseases and medical biotechnology are evaluated.

Keywords: *immunobiological supervision; systems of lectins; glycoconjugates; complement; protein hormones; probiotics; human, prophylaxis; therapy; prognostics of disease risk; diagnostics of diseases; medical biotechnology.*

For citation: *Lakhtin M. V., Lakhtin V. M., Mironov A. Yu., Aleshkin V. A., Afanasiev S. S. The human lectin supersystems possessing probiotic and protective actions. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2020; 65 (4): 231-238 (in Russ.). DOI:http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-231-238*

For correspondence*: Mironov A.Yu.,* Dr. Sci. Med., Professor, Head of the Department of Microbiology; e-mail: andy.60@mail.ru

Information about authors:

Lakhtin M. V. https://orcid.org/0000-0002-3311-0367

Lakhtin V. M. https://orcid.org/ 0000-0003-1737-0887

Mironov A. Yu. https://orcid.org/0000-0002-8544-523

Aleshkin V. A. https://orcid.org/ 0000-0001-6785-0016

Afanasiev S. S. https://orcid.org/ 0000-0003-1737-0887

Conflict of interest. *The authors declare no conflict of interest.*

Acknowledgment. *The study had no sponsorship.*

Received 19.11. 2019
Accepted 20.11.2019

Высок интерес к биоузнаванию на различных уровнях организации защитных систем организма человека с участием лектинов [35], включая систему комплемента, сеть цитокинов, пробиотики. Система комплемента является древней метаболитно-клеточной базисной сетью реакций врождённого иммунитета, основанного на реакциях распознавания, и вовлекающего не менее 120 сигнальных и инициирующих метаболитно-рецепторных участников нескольких защитных систем [14]. Белковые гормоны являются базисными мультифункциональными цитокинами с широким спектром распозна-

Для корреспонденции: *Миронов Андрей Юрьевич*, д-р мед. наук, проф., рук. отдела микробиологии; e-mail: andy.60@mail.ru

вания и реализации активности. Пробиотики, продуцирующие широкий спектр инициаторных и эффекторных метаболитов, проявляют свойства эволюционно древних партнеров здоровья человека. Важными распознающими структурами являются симбиотические микробиоценозы биотопов открытых мукозальных полостных органов, таких как кишечные и урогенитальные. К перспективным системам распознавания относятся лектины – пептиды не иммуноглобулиновой природы и их комплексы, распознающие и связывающие метаболитно-клеточные углеводы и гликоконъюгаты (ГК), инициирующие активность в отношении клеточных и межклеточных мишеней, продолжающих каскад ответа, и действующие как метаболомбиотики [9, 21, 27, 35]. Лектины – типичные регуляторы метаболизма человека с участием ферментов и сети метаболитно-клеточных взаимодействий [8, 10, 12, 14, 25, 26, 36, 37]. В связи с поиском новых перспективных биорегуляторов и средств терапии представляют интерес новые распознающие системы лектинового типа [9, 11, 22, 23]. Нами изучены пробиотические системы лектинов (ПСЛ, лактобациллярные, бифидобактериальные), СЛ гормональных цитокинов на примере эритропоэтинов (СЛ ЭПО), СЛ изотипической C_4-системы комплемента человека (C_4СЛ).

Цель – сформулировать представления о защитной суперсистеме лектинов (ССЛ), включающей ПСЛ, СЛ ЭПО, C_4СЛ; оценить её лечебно-профилактические перспективы и место в медицинской биотехнологии.

Материал и методы. ПСЛ [38-41]. Исследованы культуральные жидкости штаммов лактобацилл (ингредиентов Ацилакта), бифидобактерий (*B. adolescentis* МС-42, *B. bifidum* № 1, *B. gallinarum* ГБ и др.), составляющих моно- и мультипробиотики, используемые для поддержания здоровья и лечения дисбиозов человека. Фракция белков (>27 кД) разделялась изоэлектрофокусированием в пластине полиакриламидного геля (ПАА) в градиенте pH 3-8. ПСЛ идентифицировали на блотах по связыванию водорастворимых синтетических линейных конформационно адаптируемых поливалентных полимерных ГК с известной структурой, имитирующих муцины, природные полисахариды, гликоантигены. На ПАА- сердцевине экспонированы боковые идентичные короткие ответвления моно- и дигликозидов в виде случайных площадок (www.lectinity.com). Проявляли ГК-биотин-стрептавидин-пероксидазой в присутствии хемилюминесцентного субстрата с последующей регистрацией имэджей ПСЛ в режиме реального времени в системе *BioChemi System* (UVP). Флюоресцентная регистрация связывающего краситель (SYPRO Protein Blot stain, Bio-Rad Lab.) белка ПСЛ – в той же системе. Гели с идентифицированными лектинами вырезали, экстрагировали, концентрировали, переводили в раствор или буфер, замораживали небольшими порциями. Получали кислые [к] и щелочные [щ] лектины лактобацилл и бифидобактерий: кЛЛ, щЛЛ, кЛБ, щЛБ. Биологическая активность ПСЛ определялась общепринятыми методами [38-41].

C_4СЛ [3, 6, 17]. Использован метод функционального твёрдофазного иммуноферментного анализа (пероксидазного ФТИФА в микропанели или на блоте – хемилюминесцентного в живом изображении в системе *BioChemi System*, UVP) C_{4B} и C_{4A} сыворотки крови пациентов и здоровых доноров [3, 13]. Микропанельный вариант включал ФТИФА изотипов C_{4A}, C_{4B} в раздельных или единой микропанели. Сборку функционально активных изотипов в микропанели проводили на твёрдофазных ГК: агрегированом IgG_3 человека в случае определения C_{4A} или липополисахаридом сальмонелл – Пирогеналом – в случае C_{4B}. Изотипы определяли кроличьими или козьими антителами к C_4 человека, мечеными пероксидазой хрена. При блотинговом ФТИФА для изучения изотипов и их субизотипов десиалированные сыворотки пациентов (0,3-7 мкл) разделяли в ПАА в градиенте pH 3-5, электроблотировали (высокая разрешающая способность в сравнении с диффузным блотированием) на гидрофобную мембрану (Immobillon P, Millipore). Белок проявляли флюоресцентным красителем SYPRO.

СЛ ЭПО [1, 4, 42, 43]. Использованы: изоэлектрофокусирование в пластине ПАА-геля, электроблотинг, проявление биотин-стрептавидиновой системой с применением иммунного сэндвича AT_1(моноклональные)-AT_2, полимерных мультивалентных водорастворимых конформационно адаптируемых синтетических имитирующих муцины ГК (www.lectinity.com); флюоресценция красителя SYPRO, пероксидазная хемилюминесценция СЛ в режиме реального времени в системе BioChemi System (UVP).

Результаты и обсуждение. Краткая характеристика ПСЛ [7, 9, 15, 16, 22, 27, 28, 38-41, 44, 45]. Взаимодействие ПСЛ с наборами ГК характеризовалось как межсистемное. Один тип ГК «выделяет» уникальную мозаику – субЛС в пределах общей ПСЛ. Один тип компонента ПЛС способен ранжированно реагировать с двумя, возможно, и более, типами ГК широкого набора тестируемых ГК (возможно отсутствие взаимодействия). ПЛС слизистой оболочки человека имитируют активность пробиотиков; опережают действие пробиотических клеток, поскольку не требуется их предварительный биосинтез и накопление. Они способны к конверсии в циклах «клеточная поверхность-секреция-клеточные субпопуляции», «диссоциация растворимых форм-реассоциация с ГК» с усилением дистанционного антимикробного действия, образованием функциональных наночастиц распознающего типа. ПСЛ укорачиваются гидролазами, увеличивая количество биологически активных лектиновых молекул с повышенной проницаемостью. ПСЛ проявляют селективность функционирования в направлении ГК-мишеней (ЛБ: D-Man-1-a-ПАА>D-GalNAc-1-a-ПАА, ЛЛ: D-GalNAc-1-a-ПАА>D-Man-1-a-ПАА). ПСЛ антагонисты мукозальных *S. aureus* и кандид всех эпидемически значимых групп (I – *C. albicans, C. tropicalis*, II – *C. krusei*, III – *C. glabrata*), ранний в первые 2-3 дня культивирования суспензий и пролонгированный – до трёх и более месяцев в культуре на плотной среде. ПСЛ действуют против антибиотикорезистентных штаммов. ПСЛ обладают сходным с ГК и/или синергичным с ними влиянием, как в случае водорастворимых полимерных мультивалентных синтетических D-Man-1-a-ПАА, D-GalNAc-1-a/b-1- ПАА, L-Fuc-1-a-ПАА, на миграцию перитонеальных макрофагов (предполагается синергизм действия ЛЛ и L-Fuc-1-a-ПАА с макрофагами). ПСЛ проявляют сходство и различие с лектинами фасоли (фитогемагглютининами – индукторами цитокинов, действующими на клеточные линии опухолей) при действии на лейкоциты крови. ПСЛ характеризуются антимикробным межлектиновым синергизмом (кЛЛ и щЛЛ, кЛБ и щЛБ, кЛЛ и щЛБ, кЛБ и щЛЛ, щЛБ и D-GalNAc-1-a-ПАА-связывающие лектины лечебных трав – лапчатки белой *Potentilla ambum* и

мокрицы *Stellaria media*). ПСЛ синергичны с нистатином, кетоконазолом, итраконазолом, амфотерицином-В против кандид группы I. В отличие от пробиотиков ПСЛ независимы от действия антимикробных соединений и физических факторов стресса. ПСЛ синергичны в атаке с участием ЛЛ и ЛБ против изменённых при болезнях условно-патогенных эукариотических клеток-мишеней (кандиды групп I и II при диагносцированной цервиковагинальной патологии). ПСЛ действуют против коммуникативных тел (КТ) кандид, стафилококков, нарушая ландшафтные межнишевые коммуникации КТ кандид группы I путём превращения единого КТ в остаточные «зёрна». ПСЛ локализуют и препятствуют дальнейшему распространению территории захвата аспергиллами, вступающими в биоритмический симбиоз [отставание развития во времени] с кандидами группы I. ПСЛ ингибируют факторы патогенности кандид группы III, продуцирующих IgA_1- и IgG-протеиназы. Мажорные ПСЛ участвуют в инфраструктурной организации биотопов мукозальных органов; минорные ПСЛ, отдельные лектиновые формы – в передаче сигналов. ПСЛ кофункционируют с ферментами разных классов, в том числе эндогенными. ПСЛ усиливают антипатогенный статус нормальных экспонированных и маскированных ГК-декоров, определяющих антимикробную и противоопухолевую резистентность слизистых оболочек. L-Fuc-1-a-ПАА обладает потенциалом защиты фукозилированными ГК бифидобактерий и их консорциумов, пребиотического влияния и поддержки их метаболизма. Мультифункциональность и дальность действия ПСЛ делает их сходными с действием цитокинов и гормонов.

Краткая характеристика C_4СЛ [3, 6, 13, 17]. Алгоритм оценки дефицита компонентов комплемента по соотношению C_{4A}/C_{4B} применён в прогнозе и диагностике язвы желудка и двенадцатиперстной кишки, системной красной волчанки (СКВ), фосфолипидного синдрома, ревматоидного артрита и др. Изотипы взаимодействуют с ГК по типу лектин-ГК-распознавания. Выявлено функциональное по способности распознавать сложные гликомишени сходство изотипов C_4 с системами изоформ WGA и PHA – фитолектинами с известным действием против ряда линий опухолевых клеток. Разработанный хемилюминесцентный вариант ФТИФА сборочных форм изотипов (C_{4A} pI 4,0-4,3; C_{4B} pI 4,58-4,65; дополнительными маркёрами могут служить системы pI 4-5 рекомбинантных форм ЭПО, димерный альбумин pI 4,01-4,07) и их субизотипов на блоте (до 7 форм в случае C_{4A}, до 5 в случае C_{4B}) предусматривает анализ в новой сборочной pI-области. Она более кислая с повышенной дискретностью полос по сравнению с менее кислой областью pI не сборочных форм изотипов (на фоне меньшей интенсивности, «размытости», диффузности, недостаточной дискретности белковых полос). ФТИФА на блоте позволяет ранжировать сыворотки пациентов по абсолютным значениям (не требует дополнительного анализа соотношений изотипов) содержания в них C_4, C_{4B}, C_{4A}; выявляет дефицит C_4 (C_{4A} +C_{4B}), C_{4B},C_{4A}; надежно группирует сыворотки с небольшим дефицитом C_4 с преимущественным содержанием C_{4B} или C_{4A}, что важно для установления тенденции болезни или её риска. Результаты ФТИФА дефицита C_{4B} и C_{4A}, соотношения дефицита изотипов C_{4B} и C_{4A}, полного отсутствия изотипов, полученные в микропанели и на блоте, подтверждают друг друга. По сравнению с микропанельным, блотовый ФТИФА более чувствительный (для инициирования реакции требуется в 10 раз более низкая концентрация H_2O_2), регистрация кинетики достижения результата на уровне биоимэджей с повышенной разрешающей способностью, позволяет дополнительно выявлять серии функционально значимых субизотипов C_{4B}, C_{4A} с углублённым диагностико-прогностическим потенциалом. Использовано разработанное нами визуальное и количественно контролируемое сканированием имэджей десиалирование сывороток пациентов сиалидазно-протеолитическим коктейлем, на примере препарата N-ацетил-D-нейраминидазы *Clostridium perfringens*, Grade V, Sigma, США, в условиях оптимизированной термообработки комплемента сыворотки, повышающей «универсальность» (по отсутствию заряда) использования и стабильность сывороток («фиксированных» инактивацией комплемента) для дальнейшего анализа. При регистрации субизотипов использован, помимо основного – каталитического, дополнительный сайт пероксидазы хрена – участок связывания ацетатного аниона. Обработка блота ацетатным буфером с pH 4,5 улучшает фон, делая его однородным без градиента ухудшения видимости от C_{4A}-электрофоретической области в сторону C_{4B}-области, повышая разрешающую способность разделяемых субизотипов. Выявлено наличие на блоте функционального условного градиента комплексных с изотипами различных сывороточных ГК с известным содержанием углеводной части пациентов по тенденции возрастания в них углеводов в направлении от области C_{4A} (меньше углеводов в комплексах) к области C_{4B} (больше углеводов в комплексах), что подтверждено реакциями областей изотипов с антителами против: компонентов комплемента (C_1-ингибитора, C_{1Q}, C_3) или IgG, IgA, IgM. Данные по ГК подтверждают главные различия функциональных свойств изотипов – преимущественно связываться с углеводами (C_{4B}) или белками (C_{4A}).

Краткая характеристика СЛ ЭПО [1, 2, 4, 42, 43, 46]. В биологической жидкости (моча) присутствует система I, отличающаяся комплексностью от исходной (до попадания в биологическую жидкость), что видно из выраженной степени несовпадения pI-мозаик белка ЭПО, наличия процесса конверсии (возрастает по мере увеличения времени контакта) в моче форм рекомбинаного ЭПО человека (рчЭПО) в направлении расположения форм эндогенного ЭПО человека (эчЭПО). Имеются дополнительные распознающие надмолекулярные системы ЭПО: II – комплексы ЭПО и ГК, III – ЭПО с иммунным комплексом AT_1-AT_2, IV – комплексы ЭПО с АТ и ГК. Сеть СЛ ЭПО-ГК функционирует в виде «строительных» мажорных и сигнальных минорных систем распознания «Лектин-Ранжированный по сродству и доступности ряд ГК» и «ГК-Ранжированный ряд компонентов СЛ ЭПО». Визуально регистрируемая выраженность СЛ ЭПО-ГК изменяется, в зависимости от форм белковых комплексов с типами ГК. СЛ ЭПО обладает избирательным и высоким сродством к наборам ГК: визуальная насыщенность полос ЭПО максимальна и различается в вариантах использования LacNAc-ПАА и L-Fuc-a-ПАА, которые превосходили выраженность хемилюминесценции Man-a-ПАА. Комбинации ГК могут рассматриваться как настроечные модуляторы мозаики косвенно сцепленных активностей ЭПО, биологических, физиологических. В сравнении с эпокриновой (эукариотической гликозилированной CHO-системой экспрессии), эритростимная система (бактериальная не-

гликозилированная, с экспрессией в *E. coli*) ЭПО характеризуется усилением ГК-визуализации в мишенях соответствующих сайтов связывания: отсутствие гликанов в потенциальных сайтах гликозилирования белка создаёт «конформационную память пустот» в белке для дополнительного акцептирования меченых ГК. При сборке распознающих белков, в том числе ЭПО, формируются межсубъединичные, межмолекулярные, криптовые участки распознавания ГК, усиливается выраженность Sia- или SO_3- ГК-связывания. Регистрируется взаимовытеснение АТ и ГК из комплексов с ЭПО, синергизм между АТ- и ГК-связыванием и между типами ГК по характеру хемилюминесценции форм ГК-связывания в системной белковой мозаике комплексов ЭПО. В сравнении с исходными (до попаданию в биологическую жидкость) системами ЭПО, системы СЛ ЭПО-ГК визуализуются на фоне повышения асимметричности – внутренней групповой с 2-3 полосами в рамках расширенного диагностического pI-диапазона всех форм ЭПО и проявления «новых» сигнальных форм эчЭПО и рчЭПО диагностического и сигнального значения. Система кислых эчЭПО представляет набор множества форм, включая сиалированные и комплексные, отличные от наборов исследованных нами типов рчЭПО с относительно малым временем контакта с биологической жидкостью. ГК выполняют функции антиоксидантов и защищают сборочные формы ЭПО; способствуют выявлению перспективных устойчивых резистентных долгоживущих сборочных форм – потенциальных биомаркёров.

Возможна детекция рчЭПО в биологической жидкости: а) в pI-типичной области для форм рчЭПО и по появлению новых пиков сканирования в pI-типичной области форм эчЭПО (в биологической жидкости без эчЭПО); б) дот-блотингом концентратов мочи (более 500 раз) с использованием простых обработок блотов при pH 4 и 3; в) установлением типа рчЭПО по характеру взаимодействия системы его белковых форм с 2-3 типами из числа расширенной панели ГК (определение числа форм, их pI-распределение, выраженность хемилюминесценции). Детекция рчЭПО в моче возможна до 96 час после внутримышечного введения гормона пациенту с почечной недостаточностью, которая усложняет картину визуальной, физико-химической, электрофоретической и иммунно-ГК-ботинговой оценки системного ЭПО. рчЭПО в моче может регистрироваться по наличию инициируемых перекисью имэджей остаточных оксидоредуктазных продуктов с протяжённым диффузным pI-диапазоном в треках с рчЭПО на блоте после изоэлектрического фокусирования в ПАА.

Потенциал участия ССЛ в коммуникациях в организме. Лектиновые рецепторы разных типов представлены на поверхности клеток врождённого иммунитета, обеспечивают межклеточные коммуникации [8]. ССЛ участвуют в контроле и надзоре за развитием тканей и органов, в устранении повреждений, предотвращении онкогенеза, в индикации патогенов и «регистрации» любых деструктивных процессов [12, 25, 26]. ЛС и ГК участвуют в презентации антигенов, связи врождённого и адаптивного иммунитета, сетевой защите от патогенов [26-11]. Лектиновые субпопуляции NK-клеток способны перестраиваться, обучаться, в зависимости от появления чужеродных или ставших чужеродными ГК-мишеней в организме, в том числе опухолевых популяций клеток, функционально сцепленных с вирусными инфекциями [12]. Потенциал ССЛ в коммуникациях можно оценить по вкладу в неё главных составляющих.

ПСЛ [20, 28, 30, 40, 55]. Участие ПСЛ в распознавании проявляется в межнишевых взаимоотношениях (влияние на ниши, их перестройка, в том числе совместно с антибиотиками) в пределах пробиотического компартмента биотопного микробиоценоза, между пробиотическим и условно-патогенным компартментами [27, 28, 47], в процессах противостояния в отношении КТ условных патогенов [5, 20, 40]. Метаболитные ПСЛ участвуют в организации, функционировании, надзоре за мукозальными органами [7, 44]. Пробиотические метаболитные системы вовлекаются в межорганную передачу сигнала (crosstalk), функционируют совместно с гормоном роста [30, 55].

C_4СЛ [14, 18, 19]. Система является подсистемов (сеть-в-сети) комплемента – коммуникатора врождённого иммунитета. Комплемент кофункционирует с другими защитными системами в мукозальных органах (с вовлечением ПСЛ) и других органах и тканях с участием Toll-подобных рецепторов, CD-антигенов, цитокинов в норме и при патологии.

СЛ ЭПО. Разнообразие распознающих сборочных систем ЭПО отражает свойства коммуникационных каскадов – «Исходные препараты ЭПО-Биологическая жидкость/ГК» (системы I, II), «ЭПО биологической жидкости-Иммунный сэндвич» (система III), «ЭПО биологической жидкости-Иммунный сэндвич-ГК» (система IV, регистрирует изменение хемилюминесценции меченого иммунного сэндвича на блоте в результате добавочной люминесценции меченых ГК). Перечисленные системы могут служить визуальными имэджевыми моделями каскадного распознавания в реальном времени с участием ЭПО в сборочных ансамблях в отношении не только углеводов и ГК, но и лигандов не ГК-типов. Способность ЭПО к формированию направленных сложных сборочных систем каскадного распознавания лежит в основе его мультифункциональности.

К активности ЭПО, не связанной с гипоксией и эритропоэзом, относится влияние на апоптоз клеток (возможна гибель опухолевых клеток), ангиогенез (важно при сердечно-сосудистых болезнях), реэпителизацию тканей (при травмах и ожогах), защита и тропность тканей (синтез ЭПО в фибробластах коры почек при болезнях почек), нейропротекторное действие (при заболеваниях головного мозга, в том числе болезни Альцгеймера), противовоспалительное и защищающее ткани органов действие (при аутоиммунных болезнях, в том числе СКВ и болезни почек); устранение нарушений при участии других белковых гормонов (улучшение метаболизма глюкозы в печени при инсулинзависимом диабете), предотвращение спонтанного гломерулонефрита, частичная избирательная обратимость инфекций (лечение аспергиллёза в сочетании с амфотерицином-В, вид-зависимое ингибирование грамотрицательных патогенов), длительное противодействие отторжению трансплантата (иммуномодулирующеедействие) [29, 31-34, 48, 50-54, 56].

Система «ЭПО-Рецепторы ЭПО (ЭПОР)» и система «ЭПО-ГК» функционирует как лектиновая, поскольку является чувствительной к углеводам и ГК, зависимыми от выраженности и особенностей собственного гликозилирования [1, 2, 43]. ЭПОР выступает ключевым аффинным сайтом «хомминга» на клетках для тарджетинга молекул ЭПО и обеспечения его последующего лечебного действия в межклеточных каскадах [29, 54]. Дополнительные структурно-функциональные факторы распоз-

нающих активностей системы ЭПО-ЭПОР включают: доменную организацию молекулярных партнеров в системе [33, 56]; наличие системных форм ЭПО и ЭПОР, как в случае системы множественных форм ЭПОР, регулирующих каскады нейропротекторной активности ЭПО [52]; функционирование в коммуникационных сетях совместно с другими системами [54]; функционирование с зависимыми от систем «другой белковый гормон-наборы рецепторов» коммуникационными каскадами [55, 56], прямое стимулирование макрофагов [49].

На примере ЛС ЭПО продемонстрирован новый универсальный подход к рассмотрению потенциала распознавания у любого терапевтического белка. Открыт путь к конструированию и выбору новых биологических сетевых активностей кофункционирования мультифункционального лекарства.

Синергизм СЛ в ССЛ. Все СЛ биосовместимы друг с другом – естественными составляющими организма. рчЭПО сходен с ПСЛ по способности имитировать свойства пробиотических штаммов. Рецепторные и растворимые СЛ участвуют в организации, функционировании и контроле врождённого и адаптивного иммунитета [12, 26].

Синергизм проявляется между комбинациями ПСЛ и комплементом – против патогенов и опухолей (независимые пути воздействия на общие мишени) [7, 15, 18-20, 40, 44]; в использовании ЭПО, функционирующего с комплементом – против отторжения трансплантатов [34]. Поскольку СЛ являются базисными составляющими распознающих коммуникационных сетей, для реализации желаемой активности требуется настройка каскадов СЛ-вкладчиков и комбинаций СЛ, в том числе с участием наборов ГК [24, 46].

Сформулированы принципы организации и функционирования, свойства защитных ССЛ человека с пробиотическим действием:

1. Влияют на врождённый и адаптивный иммунитет.

Участвуют во внутриклеточных, межклеточных, тканевых, органных коммуникациях.

2. Аддитивность свойств ССЛ и доноров лигандов для ЛС (слагаемые с синергистическим действием); характеристика члена функционального суперсемейства может быть прогностически расширена рассмотрением свойств других членов [36].

3. Мультифункциональность и дистанционность действия.

4. Функционируют как метаболомбиотики с действием сеть-на-сеть и сеть-в-сети; в сетевых узлах ССЛ – переключение метатаболитно-клеточных и межклеточных путей в интерактоме человека; в узлах – синергизм защитных СЛ и их антагонизм с СЛ патогенов.

5. Антогонизм с лектинами патогенов через конкуренцию наборов ГК, белковое замещение, создание местных барьеров, инактивацию.

6. Проявляют свойства ингредиентов вакцин.

7. Создают твёрдофазные защитные цитокиново-клеточные градиенты в биотопах против патогенов на уровне биоплёнок, пористых гелей, слизевых конструкций мукозальных органов.

8. Наличие функционально активных мажорных форм-компонентов для контроля макроинфраструктуры биотопа, её модуляции и перестройки в органе в ответ на стрессовые изменения в окружении; наличие минорных сигнальных форм, включая новые экспрессированные молекулы, для тонкой регуляции в биотопе в ответ на чужеродные или ставшие чужеродными агенты.

9. В криптовых, межклеточных, метаболитно-клеточных, межмолекулярных, межсубъединичных контактах формируют новые мегапаттерновые сайты лектинового распознавания в том числе надмолекулярных сборок и вирусов (с антивирусной активностью).

10. В формировании паттернов новых сайтов лектинового распознавания у акцепторных сборочных ССЛ могут вовлекаться углеводсодержащие составляющие донорсных ГК.

Увеличение числа эффекторных форм в процессе сетевых сборок.

Способствуют возникновению новых комбинированных сочетаний метаболитно-клеточного лектинового распознавания, увеличивающих адаптивность иммунитета.

Реализуют на твёрдофазной и клеточной поверхностях через наборы компонентов в субцитоагглютинирующих концентрациях сцепленную с ними защитную биологическую активность.

Превращение в ассоциативные детергент-подобные комплексные формы с дистанционным действием.

Превращение в диссоциированные и укороченные формы с повышенной проницаемостью и антимикробным действием.

Участие в работе и регуляции сети межклеточных взаимодействий.

Участие в клеточном, тканевом, органном тропизме, его поддержка и защита.

В одном и том же тропном месте могут изначально локализоваться и совместимо функционировать несколько типов СЛ.

Реализация через кровоток и наружные покровы вторичного действия СЛ в организме.

Функционируют по принципам взаимного межсистемного распознавания: «1 лектин-ранжированный по структуре и доступности набор ГК» «1 ГК-набор лектинов», что позволяет ССЛ обнаружить патогены, патоген с изменённой поверхностью, чужеродные клетки. Упрощается вспомогательная надстроечная для эффекторных ГК реализация активностей ССЛ, проявляется универсальность ССЛ, достигается их рациональное функционирование. Реакция лектина зависит от сродства и доступности ГК (близости к месту действия, отсутствию маскированности или стерического препятствия), приближения принципа к представлениям о чувствительности ССЛ к мозаике ГК или гликопаттернам, что важно для осуществления настройки каскадов рецепторов на поверхности клеток, регулирующих межклеточные пути и взаимодействия врождённого и адаптивного иммунитета. Принцип «1 ГК-набор лектинов» повышает надёжность связывания патогенов и чужеродных клеток набором защитных лектинов, что позволяет дальнейшую упрощённые регуляцию сцепленных с лектиновой активностью надстроечных активностей, модулирование и переключение, синхронизацию различных лектинов в разных типах СЛ, создает условия для пролонгированной адекватной адаптации ССЛ в окружении для осуществления вспомогательных актов действия в отношении эффекторных надстроечных инструментов.

Создают и поддерживают адекватные ГК-поверхности в порах и толще слизистых оболочек; поддерживают экспонированные ГК внеклеточных и поверхностных матриксов.

Обеспечивают запас прочности достигнутого состояния здоровья биотопа.

Поддерживают зрелостные инфраструктуры ССЛ-ГК – факторы гарантии здоровья ткани и органа.

Адаптивны к функционированию с другими системами защиты организма.

Обладают потенциалом для профилактической и клинической медицины, косметологии, медицинской биотехнологии, функционального питания.

Заключение. Свойства ССЛ указывают на широкий потенциал её использования организмом человека. Кроме исследованных типов СЛ, имеется перспектива расширения защитной ССЛ за счёт участия других белков распознавания: лектиновых рецепторов клеток врождённого иммунитета, других белков системы комплемента. Впервые сформулированы ключевые свойства защитной ССЛ организма человека с пробиотическим действием. ССЛ функционирует как важная базисная защитная ниша интерактома человека. Состав ССЛ может быть расширен с учётом других метаболитно-рецепторных СЛ (система свертывания крови) и белков с лектиновыми свойствами (фактор роста, интерлейкины, ряд дефензинов). ССЛ представляет перспективный объект для профилактики, контроля предболезни и терапии. Универсальность применения ССЛ обусловлена как результатами исследования СЛ-вкладчиков, так и предлагаемыми нами экспериментально обоснованными концепциями. ССЛ перспективны для инноваций, являются важным новым направлением профилактической медицины и медицинской биотехнологии.

Финансирование. *Исследование не имело спонсорской поддержки.*

Конфликт интересов. *Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

ЛИТЕРАТУРА (пп. 29-56 см. REFERENCES)

1. Лахтин В. М., Лахтин М. В., Алёшкин В. А., Афанасьев С. С. Идентификация белковых и лектиновых систем эритропоэтинов. *Уральский научный вестник*. 2019; 2(1): 3-13.
2. Лахтин В. М., Лахтин М. В., Афанасьев С. С., Караулов А. В., Алёшкин В. А., Афанасьев М. С. Гликоконъюгаты в хемилюминесцентном функциональном картировании иммунного сэндвича против белковых форм. *«Здоровье и образование в XXI веке».* 2014; 16(4): 40-2.
3. Лахтин М. В. Варианты изотипирования компонента C_4 комплемента человека. Дис. … канд. биол. наук. М.; 2008.
4. Лахтин М. В., Афанасьев С. С., Лахтин В. М., Алёшкин А. В., Алёшкин В. А. Мультипараметровая детекция и диагностика эритропоэтина человека. *Электронный научно-образовательный вестник «Здоровье и образование в XXI веке».* 2013; 15(2): 23-5.
5. Лахтин М. В., Афанасьев С. С., Лахтин В. М., Байракова А. Л., Алёшкин В. А. Лектины пробиотических бактерий человека препятствуют распространению смешанных микобиоплёнок «Кандиды+Аспергиллы» микобиоты урогенитального биотопа человека. *Успехи медицинской микологии*. 2014; 12: 34-7.
6. Лахтин М. В., Козлов Л. В., Лахтин В. М., Дьяков В. Л. Выявление дефицитов изотипов С4А и С4В компонентов комплемента человека изоэлектрофокусированием и по различию в химической реакционной способности активированных форм. *Биоорганическая химия*. 2007; 33(4): 464-9.
7. Лахтин М. В., Лахтин В. М. Пробиотические лектиновые системы – перспективы биоконтроля здоровья мукозальных органов. *Успехи медицинской микологии*. 2019; 20: 24-9.
8. Лахтин М. В., Лахтин В. М., Алёшкин В. А., Афанасьев С. С. Лектиновые рецепторы в коммуникациях. *News Science Education*. 2018; 2(3): 76-98.
9. Лахтин М. В., Лахтин В. М., Алёшкин В. А., Афанасьев С. С. Фундаментальные аспекты и прикладные принципы лектиновых систем на примере симбиотических микробиоценозных штаммов и консорциумов. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2017; 2(2): 80-4.
10. Лахтин М. В., Лахтин В. М., Алёшкин В. А., Афанасьев С. С., Алёшкин А. В. Лектины и ферменты в биологии и медицине. М.: Издательство «Династия», 2010.
11. Лахтин М. В., Лахтин В. М., Алешкин В. А., Афанасьев С. С., Корсун В. Ф. Лектины в терапии. *Проблемы научной мысли*. 2017; 2(10): 77-84.
12. Лахтин М. В., Лахтин В. М., Алёшкин В. А., Афанасьев С. С., Миронов А. Ю. Лектиновые субпопуляции NK-клеток в адаптивном врождённом иммунитете против опухолей, сцепленных с вирусными инфекциями. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2019; 64(5): 314-20.
13. Лахтин М. В., Лахтин В. М., Андина С. С., Алёшкин В. А., Афанасьев С. С. Перспективы функционального анализа $C_{4в}$, $C_{4а}$ и C_1-ингибитора в прогностике риска и диагностике болезней матери и ребенка. *Акушерство и гинекология*. 2019; 4 (Приложение): 38.
14. Лахтин М. В., Лахтин В. М., Афанасьев С. С. Система комплемента – коммуникатор иммунитета человека. *Materials of the XI International scientific and practical conference «Modern european science – 2015»,*8. Biological sciences. Sheffield. Science and education LTD.: 59-67.
15. Лахтин М. В., Лахтин В. М., Афанасьев С. С., Алёшкин В. А. Мукозальный иммунитет против патогенов и опухолей с участием системы «Лектины пробиотиков-Гликополимеры». *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2015; 3: 62-9.
16. Лахтин М. В., Лахтин В. М., Афанасьев С. С., Алёшкин В. А. Разнообразие лектиновых систем пробиотических бактерий. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2015; 5: 79-82.
17. Лахтин М. В., Лахтин В. М., Афанасьев С. С., Алёшкин В. А. Визуальные паттерны субизотипов $C_{4а}$ и $C_{4в}$ компонента C_4 системы комплемента человека в диагностике системных аутоиммунных и инфекционных болезней. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2015; 5: 88-93.
18. Лахтин М. В., Лахтин В. М., Афанасьев С. С., Алёшкин В. А. Кофункционирование защитных систем: мукозальный иммунитет и система комплемента человека. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2015; 5: 113-22.
19. Лахтин М. В., Лахтин В. М., Афанасьев С. С., Алёшкин В. А. Взаимоотношения систем комплемента, Toll-подобных рецепторов, CD-антигенов и цитокинов в норме и при патологиях. Обзор. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2015; 6: 62-6.
20. Лахтин М. В., Лахтин В. М., Афанасьев С. С., Алёшкин В. А. Лектины пробиотиков против болезней микробиоценозов в организме человека. *Уральский научный вестник*. 2017; 2(9): 35-45.
21. Лахтин М. В., Лахтин В. М., Афанасьев С. С., Алёшкин В. А. Лектины: перспективы в иммунологии, микробиологии и биотехнологии. *Уральский научный вестник*. 2017; 3(12): 25-47.
22. Лахтин М. В., Лахтин В. М., Афанасьев С. С., Алёшкин В. А. Консорциумные и штаммовые пробиотические лектиновые системы мукозального иммунитета против мукозальных инфекций и опухолей: потенциал влияния на микробиоценозы посредством про/синбиотиков. *Проблемы научной мысли*. 2018; 7(12): 25-44.
23. Лахтин М. В., Лахтин В. М., Афанасьев С. С. Алёшкин В. А. Новые гликоконъюгаты-распознающие системы в прогнозировании антиинфекционного интерактома человека. *«Здоровье и образование в XXI веке»*. 2015; 17(4): 378-83.
24. Лахтин М. В., Лахтин В. М., Афанасьев С. С., Алёшкин В. А. Гликоконъюгаты в настройке активностей эритропоэтина. *Гастроэнтерология Санкт-Петербурга.* 2019; 2: 26.
25. Лахтин М. В., Лахтин В. М., Афанасьев С. С., Алёшкин В. А., Корсун В. Ф. Лектиновая система регуляции, самоконтроля повреждений, индикации патогенов и коррекции костной ткани. *News Science Education*. 2017; 5(6): 18-28.
26. Лахтин М. В., Лахтин В. М., Афанасьев С. С., Алёшкин В. А., Миронов А. Ю. Лектины и гликоконъюгаты в презентации анти-

генов и защите от патогенов (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2018; 63(10): 619-25.
27. Лахтин М. В., Лахтин В. М., Афанасьев С. С., Байракова А. Л., Караулов А. В., Афанасьев М. С., Алёшкин В. А. Мобильный синбиотопный микробиоценоз против патогенов. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2016; 3(Ч. 2): 168-73.
28. Лахтин М. В., Лахтин В. М., Байракова А. Л., Афанасьев С. С., Алёшкин В. А., Корсун В. Ф. Лектиновые системы в скрининге и конструировании препаратов, действующих на ниши патогенов. *Практическая фитотерапия*. 2017; 1: 13-8.

REFERENCES

1. Lakhtin V. M., Lakhtin M. V., Aleshkin V. A., Afanasiev S. S. Identification of protein and lectin systems of erythropoietins.*Ural´skiy nauchnyi vestnik*. 2019; 2(1): 3-13. (in Russian)
2. Lakhtin V. M., Lakhtin M. V., Afanasiev S. S., Karaulov A. V., Aleshkin V. A., Afanasiev M. S. Glycoconjugates in chemiluminescent functional mapping immune sandwich against protein forms. *Zdorov´e I obrazovanie v XXI veke*. 2014; 16(4): 40-2.
3. Lakhtin M. V. Variants of isotyping the human complement component C_4. Dis… Moscow; 2008. (in Russian)
4. Lakhtin M. V., Lakhtin V. M., Afanasiev S. S., Aleshkin A. V., Aleshkin V. A. Multipapameter detection and diagnostics of human erythropoietin. *Elektronnyi zhurmal «Zdorov´e I obrazovanie v XXI veke»*. 2013; 15(2): 23-5. (in Russian)
5. Lakhtin M. V., Afanasiev S. S., Lakhtin V. M., Bajrakova A. L., Aleshkin V. A. The human probiotic bacteria lectins prevent spread of the mixed mycobiofilms «Candida+Aspergillus» of the human urogenital biotope mycobiota. *Uspekhi meditsinskoy mikologii*. 2014; 12: 34-7. (in Russian)
6. Lakhtin M. V., Kozlov L. V., Lakhtin V. M., D'yakov V. L. Detection of the human complement components C_{4a} and C_{4b} isotype deficits by isoelectrofocusing and according to the differences in chemical reaction ability of activated forms. *Bioorganicheskaya khimiya*. 2007; 33(4): 464-9. (in Russian)
7. Lakhtin M. V., Lakhtin V. M. Probiotic lectin systems – prospects of biocontrol of the mucosal organ health. *Uspekhi meditsinskoy mikologii*. 2019; 20: 24-9. (in Russian)
8. Lakhtin M. V., Lakhtin V. M., Aleshkin V. A., Afanasiev S. S. Lectin receptors in communications. *News Science Education*. 2018; 2(3): 76-98. (in Russian)
9. Lakhtin M. V., Lakhtin V. M., Aleshkin V. A., Afanasiev S. S. Fundamental aspects and applied principles of lectin systems on example of symbiotic microbiocenosis strains and consortia. *Byulleten´ Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra SO RAMN*. 2017; 2(2): 80-4. (in Russian)
10. Lakhtin M. V., Lakhtin V. M., Aleshkin V. A., Afanasiev S. S., Aleshkin A. V. Lectins and Ensymes in Biology and Medicine. Moscow: Dinastiya; 2010. (in Russian)
11. Lakhtin M. V., Lakhtin M. V., Aleshkin V. A., Afanasiev S. S., Korsun V. F. Lectins in therapy. *Problemy nauchnoy mysli*. 2017; 2(10): 77-84. (in Russian)
12. Lakhtin M. V., Lakhtin M. V., Aleshkin V. A., Afanasiev S. S., Mironov A. Yu. Lectin subpopulations of NK cells in adaptive immunity against tumors coupled to viral infections. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2019; 64(5): 314-20 (in Russian)
13. Lakhtin M. V., Lakhtin M. V., Andina S. S., Aleshkin V. A., Afanasiev S. S. Prospects for functional analysis of C_{4b}, C_{4a} and C_1-inhibitor in prognostics of risk and diagnostics of diseases of mother and child. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2019; 4(prilozhenie): 38. (in Russian)
14. Lakhtin M. V., Lakhtin M. V., Afanasiev S. S. The complement system – the communicator of the human immunity. *Materials of the XI International scientific and practical conference «Modern european science – 2015»*. V. 8. Biological sciences. Sheffield. Science and education LTD: 59-67.
15. Lakhtin M. V., Lakhtin V. M., Afanasjev S. S., Aleshkin V. A. Mucosal immunity to the pathogens and tumors involving system «Lectins of probiotics-Glycopolymers». *Byulleten´ Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra SO RAMN*. 2015; 3: 62-9. (in Russian)
16. Lakhtin M. V., Lakhtin V. M., Afanasiev S. S., Alioshkin V. A. Diversity of probiotic bacterial lectin systems. *Byulleten´ Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra SO RAMN*. 2015; 5: 79-82. (in Russian)
17. Lakhtin M. V., Lakhtin V. M., Afanasiev S. S., Aleshkin V. A. Visual patterns of C_{4a} and C_{4b} subisotypes of C_4 component of human complement system in the diagnostics of autoimmune and infectious diseases. *Byulleten´ Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra SO RAMN*. 2015; 5: 88-93. (in Russian)
18. Lakhtin M. V., Lakhtin V. M., Afanasiev S. S., Aleshkin V. A. Cofunctioning protective systems: Mucosal immunity and human system of complement. *Byulleten´ Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra SO RAMN*. 2015; 5: 113-22. (in Russian)
19. Lakhtin M. V., Lakhtin V. M., Afanas'ev S. S., Alyoshkin V. A. Interrelation between the system of complement, Toll-like receptors, CD antigens and cytokines in normal and pathological condition (review). *Byulleten´ Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra SO RAMN*. 2015; 6: 62-6. (in Russian)
20. Lakhtin M. V., Lakhtin V. M., Afanasiev S. S., Aleshkin V. A. Lectins of probiotics against diseases of microbiocenoses in human organism. *Ural´skiy nauchny vestnik*. 2017; 2(9): 35-45. (in Russian)
21. Lakhtin M. V., Lakhtin V. M., Afanasiev S. S., Aleshkin V. A. Lectins: Prospects in immunology, microbiology and biotechnology. *Ural´skiy nauchnyi vestnik*. 2017; 3(12): 25-47. (in Russian)
22. Lakhtin M. V., Lakhtin V. M., Afanasiev S. S., Aleshkin V. A. Consortium and strain probiotic lectin systems of mucosal immunity against mucosal infections and tumors: Potential of influence microbiocenoses by pro/synbiotics. *Problemy nauchnoy mysli*. 2018; 7(12): 25-44. (in Russian)
23. Lakhtin M. V., Lakhtin V. M., Afanasiev S. S., Aleshkin V. A. New glycoconjugates-recognizing systems in prognosis of antiinfectious interactome of human. *Zdorov´e I obrazovanie v XXI veke*. 2015; 17(4): 378-83. (in Russian)
24. Lakhtin M. V., Lakhtin M. V., Afanasiev S. S., Aleshkin V. A. Glycoconjugates in setting up of erythropoietin activities. *Gastroenterologiya Sankt-Peterburga*. 2019; 2: 26. (in Russian)
25. Lakhtin M. V., Lakhtin V. M., Afanasiev S. S., Aleshkin V. A., Korsun V. F. Lectin system of regulation, damage self-control, indication of pathogens and correction of the bone tissue. *News Science Education*. 2017; 5(6): 18-28. (in Russian)
26. Lakhtin M. V., Lakhtin V. M., Afanasiev S. S., Aleshkin V. A., Mironov A. Yu. Lectins and glycoconjugates in presentation of antigens and protection against pathogens : a review. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2018; 63(10): 619-25. (in Russian)
27. Lakhtin M. V., Lakhtin V. M., Afanasiev S. S., Bajrakova A. L., Karaulov A. V., Afanasiev M. S., Aleshkin V. A. Mobil synbiotope microbiocenosis against pathogens. *Byulleten´ Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra SO RAMN*. 2016; 3 (Part 2): 168-73. (in Russian)
28. Lakhtin M. V., Lakhtin V. M., Bajrakova A. L., Afanasiev S. S., Aleshkin V. A., Korsun V. F. Lectin systems in scrining and constructing preparations influencing niches of pathogens. *Prakticheskaya fitoterapiya*. 2017; 1: 13-8. (in Russian)
29. Beh C. Y., Rasedee A., Selvarajah G. T., Yazan L. S., Omar A. R., Foong J. N., How C. W., Foo J. B.. Enhanced anti-mammary gland cancer activities of tamoxifen-loaded erythropoietin-coated drug delivery system. *PLoS One*. 2019; 14(7):e0219285.
30. Castillo-Armengol J., Fajas L., Lopez-Mejia I. C. Inter-organ communication: a gatekeeper for metabolic health. *EMBO Rep*. 2019; 20(9):e47903.
31. Dmytriyeva O., Belmeguenai A., Bezin L., Soud K., Drucker Woldbye D. P., Gøtzsche C. R., Pankratova S. Short erythropoietin-derived peptide enhances memory, improves long-term potentiation, and counteracts amyloid beta-induced pathology. *Neurobiol. Aging*. 2019;81:88-101.
32. Donadei C., Angeletti A., Cantarelli C., D'Agati V. D., La Manna G., Fiaccadori E., Horwitz J. K., Xiong H., Guglielmo C., Hartzell S., Madsen J. C., Maggiore U., Heeger P. S., Cravedi P. Erythropoietin inhibits SGK1-dependent TH17 induction and TH17-dependent kidney disease. *JCI Insight*. 2019;5; pii: 127428.
33. Huang B., Jiang J., Luo B., Zhu W., Liu Y., Wang Z., Zhang Z. Non-erythropoietic erythropoietin-derived peptide protects mice from systemic lupus erythematosus. *J. Cell Mol. Med*. 2018; 22(7): 3330-9.

34. Cantarelli C., Angeletti A., Cravedi P. Erythropoietin, a multifaceted protein with innate and adaptive immune modulatory activity. *Am. J. Transplant*. 2019;19(9): 2407-14.
35. Lakhtin V., Lakhtin M., Alyoshkin V. Lectins of living organisms. The overview. *Anaerobe*. 2011; 17(6): 452-5.
36. Lakhtin M., Lakhtin V., Alyoshkin V., Afanasyev S. Lectins of beneficial microbes: system organization, functioning and functional superfamily. *Beneficial Microbes*. 2011; 2(2): 155-65.
37. Lakhtin M. V., Lakhtin V. M., Alyoshkin V. A. Lectin and enzyme relationships in microbiology. *International Journal Molecular Clinical Microbiology*. 2011; 1(1): 9-14.
38. Lakhtin V. M., Lakhtin M. V., Pospelova V. V., Shenderov B. A. Lactobacilli and bifidobacteria lectins as possible signal molecules regulating intra- and interpopulation bacteria-bacteria and host-bacteria relationships. Part I. Methods of bacterial lectin isolation, physicochemical characterization and some biological activity investigation. *Microbial Ecology Health Disease*. 2006; 18(1): 55-60.
39. Lakhtin V. M., Lakhtin M. V., Pospelova V. V., Shenderov B. A. Lectins of lactobacilli and bifidobacteria. II. Probiotic lectins of lactobacilli and bifidobacteria as possible signal molecules regulating inter- and intrapopulation relationships between bacteria and between bacteria and the host. *Microbial Ecolology Health Disease*. 2007; 19(3): 153-7.
40. Lakhtin M., Alyoshkin V., Lakhtin V., Afanasyev S., Pozhalostina L., Pospelova V. Probiotic lactobacillus and bifidobacterial lectins against *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* clinical strains: new class of pathogen biofilm destructors. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 2010, 2(3): 186-96.
41. Lakhtin M., Lakhtin V., Aleshkin A., Bajrakova A., Afanasiev S., Aleshkin V. Lectin systems imitating probiotics: potential for biotechnology and medical microbiology. In book: *«Probiotics 2012».* Rigobelo E.C., ed. New York: InTech; 2012: 417-32.
42. Lakhtin M., Lakhtin V., Aleshkin V. Approaches to characterization and discrimination of the human protein hormone systems reacting with glycoconjugates. *News Science Education*. 2019; 3(7): 8-12.
43. Lakhtin V., Lakhtin M., Aleshkin V. Multiblot evaluation of protein hormone systems in urine. *Ural´skiy nauchny vestnik*. 2019; 2(7): 3-7.
44. Lakhtin M.V., Lakhtin V.M., Afanasiev S.S., Aleshkin V.A. Mucosal Open Cavities as the Organ of Increased Resistance and Effectiveness. *Journal Advances Biology Biotechnology*. 2016; 10(3): 1-10.
45. Lakhtin V., Aleshkin V., Lakhtin M., Afanasiev S. Glycoconjugates (GC) in discrimination of GC-recognition systems of probiotic microorganisms. New potential keys for strains and glycometabolome typing. *Glycoconjugate Journal*. 2009; 26 (7): 876.
46. Lakhtin V., Lakhtin M. Prospects of glycopatterns recognizing erythropoietins . *Glycoconjugate Journal*. 2019; 36(4): Poster 257. doi:10.1007/s10719-019-09880-4.
47. Lakhtin M. V., Lakhtin V. M., Afanasiev S. S., Bajrakova A. L., Afanasiev M. S., Aleshkin V. A. Mucosal *Candida* species microecology, sensitivity to antifungals, antifungal strategies considering probiotic pressure. *News Science Education*. 2019; 5(3): 3-21.
48. Lappin T. R., Lee F. S. Update on mutations in the HIF: EPO pathway and their role in erythrocytosis. *Blood Rev*. 2019;37:100590.
49. Melashchenko O. V., Meniailo M. E., Malashchenko V. V., Gazatova N. D., Goncharov A. G., Seledtsova G. V., Seledtsov V. I. Erythropoietin directly affects human macrophage functionality. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 2018;19(11):902-9.
50. Mittal A., Singh V., Chowdhary S., Moideen A., Kumar D., Maniar K., Bhattacharyya R., Banerjee D. The effect of recombinant human erythropoietin on bacterial growth: a dual-edged sword. *Kidney Dis. (Basel)*. 2019;5(2):81-90.
51. Nairz M., Schroll A., Moschen A. R., Sonnweber T., Theurl M., Theurl I., Taub N., Jamnig C., Neurauter D., Huber L. A., Tilg H., Moser P. L., Weiss G. Erythropoietin contrastingly affects bacterial infection and experimental colitis by inhibiting nuclear factor-κB-inducible immune pathways. *Immunity*. 2011;34(1):61-74.
52. Rey F., Balsari A., Giallongo T., Ottolenghi S., Di Giulio A. M., Samaja M., Carelli S. Erythropoietin as a neuroprotective molecule: an overview of its therapeutic potential in neurodegenerative diseases. *ASN Neuro.* 2019;11:1759091419871420.
53. Rousseau N., Picot S., Bienvenu A.L. Erythropoietin combined with liposomal amphotericin b improves outcome during disseminated aspergillosis in mice. *Front. Immunol.* 2014;5:502.
54. Sun J., Martin J. M., Vanderpoel V., Sumbria R. K. The promises and challenges of erythropoietin for treatment of alzheimer's disease. *Neuromolecular Med.* 2019;21(1):12-24.
55. Torres-Fuentes C., Golubeva A. V., Zhdanov A. V., Wallace S., Arboleya S., Papkovsky D. B., El Aidy S., Ross P., Roy B. L., Stanton C., Dinan T. G., Cryan J. F., Schellekens H. Short-chain fatty acids and microbiota metabolites attenuate ghrelin receptor signaling. *FASEB J.* 2019:fj201901433R. doi: 10.1096/fj.201901433R.
56. Zhang H., Ge Z., Tang S., Meng R., Bi Y., Zhu D. Erythropoietin ameliorates PA-induced insulin resistance through the IRS/AKT/FOXO1 and GSK-3β signaling pathway, and inhibits the inflammatory response in HepG2 cells. *Mol. Med. Rep.* 2017;16(2):2295-301.

Поступила 19.11.19
Принята к печати 20.11.19

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Тепленький М.П. , Чепелева М.В. , Кузнецова Е.И.

БОЛЕЗНЬ ПЕРТЕСА: ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

ФГБУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» имени академика Г. А. Илизарова» Минздрава РФ, 640014, Курган, Россия

Изучены показатели клеточного, гуморального иммунитета, цитокиновый статус, фагоцитарная активность нейтрофилов (ФАН) у пациентов со II и III стадиями болезни Пертеса. С учетом стадии патологического процесса пациенты (мальчики в возрасте от 8 до 12 лет) были разделены на 2 группы. В первую группу были включены 14 пациентов со II стадией болезни Пертеса (стадия фрагментации). Вторую группу составили 15 детей с III стадией болезни Пертеса (стадия реоссификации). Болезнь Пертеса, независимо от стадии заболевания, характеризовалась усилением кислородзависимой и лизосомальной фагоцитарной активности нейтрофилов, повышенным образованием ранних форм экстрацеллюлярных ловушек, повышением концентраций провоспалительных цитокинов (IL-1β и TNFa), IgE, снижением концентрации IL-18. Для стадии фрагментации была характерна умеренная активация клеточного иммунитета с преобладающим увеличением количества Т-лимфоцитов с маркерами ранней активации (CD25). На стадии реоссификации отмечалось преобладание Т-лимфоцитов с маркерами поздней активации (HLADR), что сопровождалось умеренной активацией гуморального иммунитета (увеличением концентраций сывороточных иммуноглобулинов классов А и G). Полученные данные можно использовать в качестве дополнительных критериев для уточнения стадии болезни Пертеса и прогнозирования развития остеонекроза при принятии решения о целесообразности выполнения реконструктивных операций на суставе.

Ключевые слова: *остеохондропатия головки бедренной кости; клеточный иммунитет; гуморальный иммунитет; фагоцитарная активность нейтрофилов; IL-1β; TNFa.*

Для цитирования: *Тепленький М.П., Чепелева М.В., Кузнецова Е.И. Болезнь Пертеса: иммунологические аспекты. Клиническая лабораторная диагностика. 2020; 65 (4): 239-243. DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-239-243*

Teplen'kiy M.P., Chepeleva M.V. , Kuznetsova E.I.

PERTHES DISEASE: IMMUNOLOGICAL ASPECTS

FSBI Russian Ilizarov Scientific Centre «Restorative Traumatology and Orthopaedics» of the RF Ministry of Health, 640014, Kurgan, Russian Federation

The values of cellular, humoral immunity, cytokine status, those of phagocytic activity of neutrophils (PAN) have been studied in patients with Perthes disease II and III Stages.
Considering a stage of the pathological process patients (boys at the age of 8-12 years) were divided into two (2) groups. Group 1 included 14 patients with the fragmentation stage (Perthes disease Stage II). Group 2 included 15 children with Perthes disease Stage III (the stage of re-ossification). Perthes disease regardless of the stage of the disease was characterized by the increase in oxygen-dependent and lysosomal phagocytic activity of neutrophils, the increase in the number of early extracellular traps, as well as by increased concentrations of pro-inflammatory cytokines (IL-1β and TNFa), IgE, decreased concentrations of IL-18.
The fragmentation stage was characterized by moderate activation of cellular immunity with a prevailing increase in the number of T-lymphocytes with early activation markers (CD25).
At the re-ossification stage the predominance of T-lymphocytes was observed with late activation markers (HLADR), being accompanied by moderate activation of humoral immunity (increased concentrations of class A and G serum immunoglobulins). The obtained data can be used as additional criteria for clarifying Perthes disease stage, predicting osteonecrosis development when making decision of the feasibility of performing reconstructive surgeries on the joint.

Keywords: *of femoral head osteochondropathy; cellular immunity; humoral immunity; phagocytic activity of neutrophils; IL-1β, TNFa.*

For citation: *Teplen'kiy M.P. , Chepeleva M.V. , Kuznetsova E.I. Perthes disease: immunological aspects. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2020; 65 (4): 239-243. (in Russ.).*
DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4- 239-243

For correspondence: *Chepeleva M.V.,* Candidate of Medical Sciences, a senior researcher, Clinical Laboratory of Microbiology and Immunology; e-mail: marina.barbara7@yandex.ru

Information about authors:

Teplenkiy M.P., ORCID iD https://orcid.org/0000-0002-1973-5192

Chepeleva M. V., ORCID iD https://orcid.org/0000-0002-9731-115X

Kuznetsova E. I., ORCID iD https://orcid.org/0000-0001-8022-5696

Received 11.02.2020
Accepted 15.02.2020

Для корреспонденции: *Чепелева Марина Владимировна*, канд. мед. наук, ст. науч.сотр. научно-клинической лаборатории микробиологии и иммунологии; e -mail: marina.barbara7@yandex.ru

Введение. Болезнь Легга–Кальве–Пертеса — форма патологии тазобедренного сустава, в основе которой лежит нарушение кровоснабжения головки бедренной кости с постепенным развитием остеонекроза. Распространенность заболевания составляет от 0,4 до 29 (в

среднем, от 5 до 10) на 100000 детей в возрасте от 3 до 15 лет [1- 3].

К предрасполагающим факторам заболевания относят травматические повреждения суставных тканей, транзиторный синовит, развившийся в результате микробных и вирусных инфекций, миелодисплазию поясничного отдела спинного мозга, генетические нарушения, коагулопатии, гормональные и обменные нарушения [4]. При этом в отношении этиопатогенеза данной остеохондропатии до настоящего времени остается много неясного.

Многие исследователи считают важным участие иммунной системы в развитии патологических процессов при болезни Пертеса, о чем свидетельствует наличие плазматических клеток, повышенный уровень циркулирующих иммунных комплексов и провоспалительных цитокинов в синовиальной жидкости, повышенные концентрации сывороточных иммуноглобулинов и С-реактивного белка [5, 6]. Однако, в настоящее время отсутствует комплексный взгляд на природу иммунных нарушений при данной патологии, имеющиеся в литературе сообщения представлены анализом отдельных показателей без учета стадий патологического процесса.

Цель исследования – изучить показатели клеточного, гуморального иммунитета, цитокиновый статус, фагоцитарную активность нейтрофилов (ФАН) у пациентов со II и III стадиями болезни Пертеса.

Материал и методы. Основу исследования составили результаты, полученные при предоперационном иммунологическом обследовании 29 детей мужского пола в возрасте от 8 до 12 лет. С учетом стадии патологического процесса пациенты были разделены на 2 группы. В первую группу (I) включены 14 пациентов в стадии фрагментации (II стадия болезни Пертеса). Вторую группу (II) составили 15 детей с III стадией болезни Пертеса (стадия реоссификации). Критерии включения: болезнь Пертеса II-III стадии, продолжительность заболевания 7 - 18 месяцев. Критерии исключения: болезнь Пертеса I, IV стадии, асептический некроз головки бедра другой этиологии, острые и хронические соматические заболевания, которые могли бы оказать влияние на результаты исследования.

Забор периферической крови производился из локтевой вены в вакутайнер. Типирование лимфоцитов периферической крови проводилось методом лазерной проточной цитофлюориметрии на цитометре «BECKMAN COULTER EPICS XL» (США) с использованием моноклональных антител «Immunitech» (Франция). Количественное определение сывороточных цитокинов, иммуноглобулинов, и циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) выполнено методом ИФА на иммуноферментном анализаторе BIO-TEK Instruments Inc, EL$_x$808 (США) с использованием набора реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (Россия). Кислородзависимую метаболическую активность нейтрофилов оценивали в реакции восстановления нитросинего тетразолия (НСТ - тест) по методу Park, в двух вариантах: спонтанном и стимулированном. В качестве стимулятора использовали микробную тест - культуру *Staphylococcus epidermidis* штамм № 9198 «НИИЭМ» СЗО РАМН. Активность миелопероксидазы (МП) определялась по Грехему – Кнолю. Активность лизосомальных катионных белков (КБ) устанавливали в реакции с бромфеноловым синим (по методу М. Г. Шубича). Значения КБ и МП выражали в виде среднего цитохимического коэффициента (СЦК). Для подсчета эстрацеллюлярных нейтрофильных ловушек (NETs) использовали мазки крови, окрашенные по Романовскому – Гимзе. Подсчитывали процент нейтрофилов, прошедших стадию трансформации ядра и выбросивший во внеклеточное пространство свободный хроматин в виде сетеподобных структур. Учет NETs и исследование ФАН осуществлялось при помощи светового микроскопа Axio Lab.A 1 (Karl Zeiss MicroImaging GmbH; объектив 100 (МИ), окуляр 12,5х) с использованием иммерсии. Контрольную группу (КГ) составили 10 относительно здоровых детей аналогичного возраста и пола. При проведении исследований соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации October 2013).

Статистическая обработка проводилась с помощью программного обеспечения AtteStat, выполненного в качестве надстройки к «Microsoft Excel» программного продукта «Microsoft Office». Использовался непараметрический U-критерий Манна — Уитни. Результаты исследования были представлены в виде медианы, первого и третьего квартилей. Для выявления групповых различий в отношении исследуемых показателей выполнялся статистический анализ множественных сравнений с применением критерия Краскела-Уоллиса. Для принятия или отклонения нулевой гипотезы исходный уровень α был принят равным 0.05. Если выявлялось различие между исследуемыми группами (отвергалась нулевая гипотеза), то дополнительно, при помощи апостериорных попарных сравнений с применением критерия Манна-Уитни определялось, между какими именно группами (I - II, I - КГ, II - КГ) имеются достоверно значимые различия. Статистическая значимость апостериорных сравнений (для $p < 0,05$) с учетом количества групп (3) принималась как 0.05 / 3 =0.0167.

Результаты. Межгрупповые различия при применении критерия Краскела-Уоллиса были выявлены в отношении $CD3^+HLADR$, $CD3^+CD25^+$, $CD8^{dim}CD38^+$, IgA, IgM, IgE,IL-1β, TNFα, IL-18, НСТ, миелопероксидазы, катионных белков, NETs (табл. 1, 2, 3, 4). Парные сравнения позволили дифференцировать особенности иммунного статуса, характерные для определенной стадии остеохондропатии.

От значений контрольной группы II стадия болезни Пертеса отличалась повышением как относительного, так и абсолютного количества $CD3^+CD25^+$ (Т-лимфоцитов с маркерами ранней активации), более высокими концентрациями провоспалительных цитокинов (IL-1β, TNFα) и IgE, снижением уровня IL-18, повышением НСТ-теста и индекса стимуляции НСТ, миелопероксидазы, катионных белков и NETs.

Отличия от значений контрольной группы в группе с III стадией болезни Пертеса заключались в повышении содержания $CD3^+HLADR$ (Т-лимфоцитов с маркерами поздней активации), $CD8^{dim}CD38^+$ (активированных натуральных киллеров), увеличении концентраций IgG, IgE, IL-1β, TNFα, снижении уровня IL-18, повышением НСТ-теста и индекса стимуляции НСТ, миелопероксидазы, катионных белков и NETs.

Общим для групп с болезнью Пертеса, в сравнении с показателями контрольной группы, было повышение концентраций сывороточных провоспалительных цитокинов IL-1β и TNFa, IgE, НСТ-теста, миелопероксидазы, катионных белков и NETs, повышение количества активированных Т-лимфоцитов.

Таблица 1

Показатели клеточного иммунитета

Показатель		ОХП II стадия (I)	ОХП III стадия (II)	Контрольная группа (КГ)	Критерий Краскела-Уоллиса, *p*
Т - лимфоциты $CD3^+CD19^-$	%	70,9 (66,2 – 76,5)	76,5 (69,8 – 78,8)	71,0 (68,4 – 73,6)	>0,05
	10^9/л	1,5 (1,4 – 2,02)	1,44 (1,14 – 1,69)	1,4 (1,3 – 1,54)	>0,05
Т - хелперы $CD3^+CD4^+$	%	46,1 (40,9 – 47,5)	42,7 (37,5 – 50,0)	42,8 (41,2 – 45,5)	>0,05
	10^9/л	1,0 (0,91 – 1,2)	0,79 (0,62 – 0,95)	0,86 (0,8 – 1,03)	>0,05
Цитотоксические Т - лимфоциты $CD3^+CD8^+$	%	28,6 (22,1 – 31,0)	27,5 (23,0 – 30,9)	26,0 (24,9 – 29,0)	>0,05
	10^9/л	0,66 (0,48 – 0,84)	0,53 (0,41 – 0,64)	0,58 (0,47 – 0,68)	>0,05
В - лимфоциты $CD3^-CD19^+$	%	14,6 (11,2 – 17,7)	13,5 (11,9 – 15,4)	13,5 (12,2 – 16,5)	>0,05
	10^9/л	0,3 (0,26 – 0,4)	0,25 (0,21 – 0,31)	0,27 (0,26 – 0,3)	>0,05
Натуральные киллеры $CD3^-$ $CD16^+CD56^+$	%	11,3 (7,7 – 15,9)	8,0 (6,4 – 17,9)	13,5 (11,3 – 15,5)	>0,05
	10^9/л	0,26 (0,18 – 0,32)	0,17 (0,11 – 0,32)	0,29 (0,23 – 0,34)	>0,05
$CD3^+$HLADR (поздняя активация Т-лимфоцитов)	%	1,8 $^+$ (1,3 – 2,2)	2,55* (2,4 – 3,12)	1,8 (1,3 – 2,17)	H=7,11; p=0,028 I-II: *p*=0,015, II-КГ: *p*=0,004
	10^9/л	0,043 $^+$ (0,023 – 0,06)	0,055* (0,041 – 0,074)	0,036 (0,03 – 0,042)	H=6,8; *p*=0,034 II - КГ: *p*=0,0035
$CD3^+CD25^+$ (ранняя активация Т-лимфоцитов)	%	2,6* (2,4 – 3,5)	3,95 (1,92 – 4,55)	1,75 (1,3 – 2,0)	H=6,46; *p*=0,04 I - КГ: *p*=0,0075
	10^9/л	0,061* (0,051 – 0,082)	0,07 (0,037 – 0,095)	0,037 (0,02 – 0,04)	H=11,9; *p*=0,025 I - КГ: *p*=0,0046
$CD8^{bright}CD38^+$	%	2,37 (2,2 – 3,0)	2,4 (1,41 – 4,43)	3,26 (2,6 – 3,87)	>0,05
$CD8^{dim}CD38^+$	%	0,99 $^+$ * (0,83 – 1,36)	0,49* (0,42 – 0,56)	0,89 (0,59 – 1,51)	H=7,9; *p*=0,019 I - II: *p*=0,01, II-КГ: *p*=0,005

Примечание. Здесь и в табл 2, 4: * – статистическая значимость отличий от величин соответствующих показателей контрольной группы; $^+$- обозначена статистическая значимость отличий между I и II группами.

Таблица 2

Показатели гуморального иммунитета

Показатель	ОХП II стадия (I)	ОХП III стадия (II)	Контрольная группа (КГ)	Критерий Краскела-Уоллиса, *p*
IgA (мг/мл)	0,71$^+$ (0,43 – 1,55)	1,58 (0,92 – 3,27)	1,52 (1,1 – 1,6)	H=6,93; *p*=0,0312 I-II: *p*=0,0117
IgM (мг/мл)	1,37 (0,99 – 1,92)	1,45 (0,99 – 2,18)	1,6 (1,3 – 1,9)	>0,05
IgG (мг/мл)	8,37$^+$ (6,4 – 10,8)	13,9* (9,96 – 18,9)	8,0 (7,0 – 10,1)	H=9,7; *p*=0,0078 I-II: *p*=0,011, II-КГ: *p*=0,0012
IgE (мМЕед)	28,2* (4,1 – 82,0)	19,9* (8,5 – 93,17)	4,2 (0,6 – 7,8)	H=7,7; *p*=0,021 I-КГ: *p*=0,010, II-КГ: p=0,0068
ЦИК (у.е.)	29,0 (20,2 – 55,5)	29,5 (18,5 – 36,5)	18,5 (13,25 – 30,0)	>0,05

Различия между группами заключались в статистически значимом повышении Т-лимфоцитов с маркерами ранней активации ($CD25^+$) в группе со II стадией болезни Пертеса; увеличении содержания Т-лимфоцитов с маркерами поздней активации (HLADR), концентраций IgA и IgG, содержания катионных белков в нейтрофильных гранулоцитах периферической крови в группе с III стадией болезни Пертеса.

Обсуждение. В литературных источниках мы не встретили описания иммунологических нарушений на разных стадиях болезни Пертеса, тем не менее, это важно, так как заболевание носит стадийный характер.

Согласно результатам наших исследований, на стадии фрагментации наблюдалась умеренная активация клеточного иммунитета. Отмечалось увеличение количества Т-лимфоцитов, преимущественно, с маркерами ранней активации (CD25). На стадии реоссификации было выявлено более высокое содержание Т-лимфоцитов с маркерами поздней активации (HLADR), что сопровождалось увеличением концентраций сывороточных иммуногло-

Таблица 3

Концентрации сывороточных цитокинов

Показатель	ОХП II стадия (I)	ОХП III стадия (II)	Контрольная группа (КГ)	Критерий Краскела-Уоллиса, *p*
IL-1β (пг/мл)	1,68* (1,17 – 2,86)	3,1* (1,6 – 3,45)	0,08 (0,06 – 1,0)	H=9,7; *p*=0,008 I - КГ: p=0,0035, II - КГ: *p*=0,009
IL-6 (пг/мл)	1,25 (1,04 – 5,05)	0,9 (0,71 – 3,2)	0,94 (0,6 – 1,15)	>0,05
IL-8 (пг/мл)	19,2 (8,55 – 35,3)	12,1 (7,6 – 14,9)	12,5 (7,7 – 14,5)	>0,05
IL-10 (пг/мл)	4,76 (2,79 – 5,86)	2,93 (2,7 – 8,9)	5,5 (4,7 – 6,7)	>0,05
IL-18 (пг/мл)	164,6* (118,4 – 233,9)	165,3* (134,2 – 189,4)	258,5 (235,8 – 274,2)	H=12,73; *p*=0,0018 I- КГ: *p*=0,0042, II- КГ: *p*=0,00044
TNFα (пг/мл)	4,15* (2,0 – 8,3)	2,9* (2,34 – 4,91)	0,95 (0,77 – 1,2)	H=10,5; *p*=0,0053 I - КГ: *p*=0,008, II - КГ: *p*=0,0008

Примечание. * - обозначена статистическая значимость отличий от величин соответствующих показателей контрольной группы.

Таблица 4

Показатели фагоцитарно-метаболической активности нейтрофилов

Показатель	ОХП II стадия (I)	ОХП III стадия (II)	Контрольная группа (КГ)	Критерий Краскела-Уоллиса, *p*
НСТ-спонт. (%)	15,0* (14,0 – 16,0)	16,0* (10,0 – 25,2)	8,0 (7,0 – 9,0)	H=16,4; *p*=0,0003 I- КГ: *p*=0,0031, II- КГ: *p*=0,00036
НСТ стим. (%)	78,0 (78,0 – 82,0)	81,0 (77,7 – 90,0)	80,0 (78,0 –81,0)	>0,05
ИС НСТ	5,5* (4,9 – 5,7)	5,8* (3,19 – 7,42)	9,3 (8,9 – 10,0)	H=15,52; *p*=0,004 I- КГ: *p*=0,00031, II- КГ: *p*=0,00069
Миелопероксидаза	2,6* (2,47 – 2,71)	2,75* (2,67 – 2,8)	2,3 (2,2 – 2,4)	H=15,76; *p*=0,0004 I- КГ: *p*=0,00017, II- КГ: *p*=0,00016
Катионные белки	2,42+ * (2,4 – 2,5)	2,62* (2,5 – 2,7)	2,15 (2,0 – 2,3)	H=9,06; p=0,01 I-II -0,013 I- КГ: *p*=0,00017, II- КГ: *p*=0,0035
NETs (общее колличество)	5,0* (4,5 – 5,7)	5,5* (4,0 – 6,0)	2,0 (2,0 – 3,7)	H=9,06; *p*=0,01 I- КГ: *p*=0,01, II- КГ: *p*=0,0033
NETs (стадия1а)	2,5* (1,8 – 3,25)	3,5* (1,8 – 4,0)	1,0 (1,0 – 2,0)	H=7,23; *p*=0,02 I- КГ: *p*=0,031, II- КГ: *p*=0,0016
NETs (стадия 1б)	1,0 (0,0 – 2,0)	1,5 (0,0 – 2,0)	0,5 (0,0 – 1,5)	>0,05
NETs (зрелые)	1,0 (0 - 2,0)	1,5 (0 - 2,25)	1,0 (0 – 1,0)	>0,05

булинов классов A и G, и в целом свидетельствовало о длительном течении патологического процесса.

Как известно, регуляции метаболизма костной ткани осуществляется целым рядом цитокинов [7]. Ключевая роль в процессах костной резорбции отводится IL-1β и TNFα. Апоптоз остеоцитов в некротической зоне, вызванный TNFα, является одной из основных причин, которые приводят к остеонекрозу и разрушению структуры кости. Известно также, что TNFα оказывает негативное влияние на дифференцировку остеобластов [8, 9]. С другой стороны, имеются сведения, что TNFα способствует пролиферации мезенхемальных стволовых клеток (rMSC) и активирует ангиогенез, что, несомненно, является важным положительным фактором для данной патологии [10]. Большинство исследователей приводят данные о повышенных концентрациях IL-1β и TNFα в синовиальной жидкости и периферической крови больных с Болезнью Пертеса, что согласуется с нашими данными. Однако, в ряде публикаций указывается на отсутствие достоверного повышения данных цитокинов [11]. Согласно нашим исследованиям, концентрации сывороточных IL-1β и TNFα в обеих группах превышают уровни контрольной группы. При этом статистически значимых отличий между группами со II и III стадиями болезни Пертеса мы не выявили.

Интересной находкой было снижение в обеих группах концентраций сывороточного IL-18. Данный цитокин способен ингибировать опосредованный TNF-альфа остеокластогенез [12]. Кроме того, IL-18 индуцирует продукцию IFNγ. В свою очередь, IFN-γ может способствовать образованию и дифференцировке остеобластов путем активации остеогенных факторов и ингибировать раннюю дифференцировку остеокластов [13, 14]. Следовательно, снижение выработки IL-18 при болезни Пертеса может играть негативную роль в патогенезе заболевания. Согласно нашим данным, снижение концентраций IL-18 наблюдалось в обеих группах. Ожидаемым было повышение концентрации данного цитокина на стадии реоссификации, однако достоверных отличий между группами со II и III стадиями болезни Пертеса мы не выявили.

Нейтрофилы представляют собой компонент врождённого иммунитета, одним из первых включающийся в защиту организма от трансформированных и поврежденных клеток, определяя направленность, характер и тяжесть течения патологического процесса. Независимо от стадии болезни Пертеса мы наблюдали усиление

кислородзависимой и лизосомальной фагоцитарной активности нейтрофилов, что совпадало с имеющимися в литературных источниках данными [15]. Необходимо отметить, что избыточное выделение кислородных метаболитов нейтрофилами во внеклеточное пространство способствует дальнейшему разрушению костного матрикса и эндотелия сосудов в суставных тканях, негативно влияя на течение болезни Пертеса. В обеих группах мы наблюдали увеличение количества нейтрофильных эстрацеллюлярных ловушек (NETs). Между тем, на этапах нетоза увеличивалось количество ловушек на ранних стадиях развития, которые не развивались до зрелых форм, что свидетельствовало об отсутствии инфекционного характера патологического процесса. Следовательно, активация кислородзависимого метаболизма и лизосомальной активности нейтрофилов была вызвана остеонекрозом.

Заключение. Болезнь Пертеса, независимо от стадии заболевания, характеризовалась усилением кислородзависимой фагоцитарной и лизосомальной активности нейтрофилов, повышенным образованием ранних форм экстрацеллюлярных ловушек, повышением концентраций провоспалительных цитокинов (IL-1β и TNFa), IgE, снижением концентрации IL-18.

Для стадии фрагментации была характерна умеренная активация клеточного иммунитета с преобладающим увеличением количества Т-лимфоцитов с маркерами ранней активации (CD25). На стадии реоссификации отмечалось преобладание Т-лимфоцитов с маркерами поздней активации (HLADR), что сопровождалось умеренной активацией гуморального иммунитета (увеличением концентраций сывороточных иммуноглобулинов классов А и G).

Полученные данные можно использовать в качестве дополнительных критериев для уточнения стадии Болезни Пертеса, прогнозирования развития остеонекроза при принятии решения о целесообразности выполнения реконструктивных операций на суставе.

Конфликт интересов. *Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

Финансирование. *Исследование не имело спонсорской поддержки.*

ЛИТЕРАТУРА (пп.1, 4, 6-14 см. REFERENCES)

2. Бунов В.С., Тепленький М.П., Олейников Е.В. Особенности гемодинамики в шейке бедренной кости у детей с асептическим некрозом головки бедра. *Гений ортопедии.* 2016; 4: 50-5.
3. Крутикова Н.Ю., Виноградова А.Г. Болезнь Легга–Кальве–Пертеса. *Вопросы современной педиатрии*. 2015; 14 (5): 548-52.
5. Шабалдин Н.А., Кравец Е.М., Шабалдин А.В., Уткин В.А., Горшкова С.В., Головкин С.И. Диагностические критерии стадии латентной ишемии при болезни Легга-Кальве-Пертеса. *Russian journal of pediatric surgery*. 2017; 21(1): 31-7.
15. Захарова Н.В., Доровских В.А., Борозда И.В. Роль оксидантного стресса в возникновении болезни Легга – Кальве – Пертеса. Основные концепции патогенеза, диагностики и лечения (обзор литературы). *Якутский медицинский журнал.* 2011; 4 (36): 95 -9.

REFERENCES

1. Kessler J.I., Cannamela P.C. What are the Demographics and Epidemiology of Legg-Calvé-Perthes Disease in a Large Southern California Integrated Health System? *Clin. Orthop. Relat. Res*. 2018; 476 (12): 2344-50. DOI: 10.1097/CORR.0000000000000490.
2. Bunov V.S., Teplenkiy M.P., Oleinikov E.V. Characteristic features of hemodynamics in the femoral neck of children with femoral head aseptic necrosis. *Geniy Ortopedii*.2016; 4: 50-5. (in Russian)
3. Krutikova N.Yu., Vinogradova A.G. Legg-Calvé-Perthes disease. *Voprosy Sovremennoy Pediatrii*. 2015; 14 (5): 548-52. (in Russian)
4. Pavone V., Chisari E., Vescio A., Lizzio C., Sessa G., Testa G. Aetiology of Legg-Calvé-Perthes disease: A systematic review. *World J. Orthop.* 2019; 10 (3): 145-65. DOI: 10.5312/wjo.v10.i3.145.
5. Shabaldin N.A., Kravets E.M., Shabaldin A.V., Utkin V.A., Gorshkova S.V., Golovkin S.I. Diagnostic criteria of latent ischemia stage for Legg-Calvé-Perthes disease. *Detskaya Khirurgiya.* 2017; 21 (1): 31-7. (in Russian)
6. Gupta A., Mathur A., Babu H., Sharma A.K. Clinical implications and immunological findings of Perthes disease: Review. *Int. J. Recent Sci. Res*. 2017; 8 (9): 20351-4. DOI: http://dx.doi.org/10.24327/ijrsr.2017.0809.0877.
7. Amarasekara D.S., Yun H., Kim S., Lee N., Kim H., Rho J. Regulation of Osteoclast Differentiation by Cytokine Networks. *Immune Netw.* 2018; 18(1): e8. DOI: 10.4110/in.2018.18.
8. Zhou F.H., Foster B.K., Zhou X.F., Cowin A.J., Xian C.J. TNF-alpha mediates p38 MAP kinase activation and negatively regulates bone formation at the injured growth plate in rats. *J. Bone Miner. Res*. 2006; 21 (7): 1075-88. DOI: 10.1359/jbmr.060410.
9. Adapala N.S.,Yamaguchi R., Phipps M., Aruwajoye O., Kim H.K.W. Necrotic Bone Stimulates Proinflammatory Responses in Macrophages through the Activation of Toll-Like Receptor 4. *Am. J. Pathol.* 2016; 186 (11): 2987-99. DOI: 10.1016/j.ajpath.2016.06.024.
10. Fang B., Wang D., Zheng J., Wei Q., Zhan D., Liu Y. et al. Involvement of tumor necrosis factor alpha in steroid-associated osteonecrosis of the femoral head: friend or foe? *Stem. Cell Res. Ther.* 2019; 10(1): 5. DOI: 10.1186/s13287-018-1112-x.
11. Kamiya N., Yamaguchi R., Adapala N.S., Chen E., Neal D., Jack O. et al. Legg-Calvé-Perthes disease produces chronic hip synovitis and elevation of interleukin-6 in the synovial fluid. *J. Bone Miner. Res.* 2015; 30 (6):1009-13. DOI: 10.1002/jbmr.2435.
12. Morita Y., Kitaura H., Yoshimatsu M., Fujimura Y., Kohara H., Eguchi T., Yoshida N. IL-18 inhibits TNF-alpha-induced osteoclastogenesis possibly via a T cell-independent mechanism in synergy with IL-12 in vivo. *Calcif. Tissue Int.* 2010; 86 (3): 242-8. DOI: 10.1007/s00223-010-9335-6.
13. Maruhashi T., Kaifu T., Yabe R., Seno A., Chung S.H., Fujikado N., Iwakura Y. DCIR maintains bone homeostasis by regulating IFN-γ production in T cells. *J. Immunol*. 2015; 194 (12): 5681-5691. DOI: 10.4049/jimmunol.1500273.
14. Tang M., Tian L., Luo G., Yu X. Interferon-Gamma-Mediated Osteoimmunology. *Front. Immunol.* 2018; 29 (9):1508. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01508.
15. Zakharova N.V., Dorovskikh V.A., Borozda I.V. The role of oxidant stress in the occurrence of Legg-Calvé-Perthes disease. Main concepts of pathogenesis, diagnosis treatment (review of the literature). *Yakutskiy Meditsinskiy Zhurnal*. 2011; 4: 95-99. (in Russian)

Поступила 11.02.20
Принята к печати 15.02.20

RUSSIAN CLINICAL LABORATORY DIAGNOSTICS. 2020; 65(4)
DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-244-250

МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Детушева Е. В.[1], Фурсова Н. К.[1], Коровкин С. А.[2]

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ДИОКСИДИНА И ДИОКСИДИН-СОДЕРЖАЩЕГО ПРЕПАРАТА «НОСОЛИН-УЛЬТРА, КАПЛИ НАЗАЛЬНЫЕ»

[1]ФБУН «ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, 142279, Оболенск, Московская обл., Россия;
[2]ЗАО «ФИРН-М», 142279, Оболенск, Московская обл., Россия

Изучена антимикробная активность антисептика диоксидина и комплексного диоксидин-содержащего препарата «Носолин-ультра, капли назальные» против планктонных и биоплёночных культур возбудителей ЛОР-инфекций, изучение динамики формирования микробной устойчивости к диоксидину. В работе использованы 11 референс-штаммов и 9 клинических штаммов микроорганизмов: Streptococcus spp., Staphylococcus spp., Micrococcus luteus, Haemophilus influenzae, Acinetobacter pittii, Klebsiella pneumoniae, Moraxella catarrhalis, Pseudomonas aeruginosa, Proteus vulgaris, Candida albicans. Антимикробную активность препаратов против планктонных культур определяли методом серийных разведений в бульоне и спот-методом на плотных питательных средах, против биоплёнок – методом аппликаторов. Динамику формирования устойчивости к диоксидину изучали, пассируя культуры в жидкой питательной среде с возрастающими концентрациями антисептика. Выявлено, что Диоксидин проявлял антимикробную активность против планктонных клеток всех штаммов (МБК=0,08-5 мг/мл), кроме S. pyogenes SN345 (МБК>5 мг/мл), подавлял рост сформированных биоплёнок (МБК=0,08-2,5 мг/мл) всех штаммов, кроме S. pyogenes SN345 (МБК>5 мг/мл). Препарат «Носолин-ультра, капли назальные» высокоактивен против планктонных клеток (МБК=0,04-0,63 мг/мл) и биоплёнок (МБК=0,02-0,31 мг/мл) грамотрицательных бактерий, кроме A. pittii (МБК>2,5 мг/мл), менее активен – против планктонных клеток (МБК=1,25-2,5 мг/мл) и биоплёнок (МБК=0,02-0,31 мг/мл) грамположительных бактерий и C. albicans. Один штамм (S. aureus) сформировал вариант, устойчивый к диоксидину в концентрации 20 мг/мл, что превысило концентрацию диоксидина в комплексном препарате, другие штаммы (P. aeruginosa, K. Pneumonia, C. albicans) таких вариантов не сформировали. Препарат «Носолин-ультра, капли назальные» может быть эффективно использован против большинства возбудителей ЛОР-инфекций. При длительном использовании препарата для некоторых видов ЛОР-патогенов в перспективе может быть отмечено незначительное снижение эффективности.

Ключевые слова: *диоксидин; антимикробная активность; ЛОР-инфекции; планктонные бактерии; биоплёнки*

Для цитирования: *Детушева Е. В., Фурсова Н. К., Коровкин С. А. Антимикробная активность диоксидина и диоксидин-содержащего препарата «Носолин-ультра, капли назальные». Клиническая лабораторная диагностика. 2020;65(4): 244-250. DOI:http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-244-250*

Detysheva E. V.[1], Fursova N. K.[1], Korovkin S. A.[2]

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF DIOXIDINE AND DIOXIDINE-CONTAINING MEDICINE «NOSOLIN-ULTRA, NASAL DROPS»

[1]State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow region, Russia;
[2]CJSC «FIRN-M», Obolensk, Moscow region, Russia

The study is devoted to the study of the antimicrobial activity of the antioxidant dioxidin and the complex dioxin-containing preparation Nosolin-ultra, nasal drops against planktonic and biofilm cultures of pathogens of ENT infections, the dynamics of the formation of microbial resistance to dioxidine. 11 reference strains and 9 clinical strains of microorganisms were used in the study: Streptococcus spp., Staphylococcus spp., Micrococcus luteus, Haemophilus influenzae, Acinetobacter pittii, Klebsiella pneumoniae, Moraxella catarrhalis, Pseudomonas aeruginosa. The antimicrobial activity of preparations against planktonic cultures was determined by serial dilution in broth and spot method on solid nutrient media, against biofilms by the applicator method. The dynamics of dioxidine resistance formation was studied by passaging cultures in a liquid nutrient medium with increasing concentrations of antiseptic. Based on the study, it was found that Dioxidin showed antimicrobial activity against plankton cells of all strains (MBC=0.08-5 mg/ml), except S. pyogenes SN345 (MBC>5 mg/ml), inhibited the growth of formed biofilms (MBC=0.08-2.5 mg/ml) of all strains except S. pyogenes SN345 (MBC>5 mg/ml). The drug «Nosolin-ultra, nasal drops» was highly active against plankton cells (MBC=0.04-0.63 mg/ml) and biofilms (MBC=0.02-0.31 mg/ml) of gram-negative bacteria, except A. pittii (MBC>2.5 mg/ml), less active against plankton cells (MBC=1.25-2.5 mg/ml) and biofilms (MBC=0.02-0.31 mg/ml) of gram-positive bacteria and C. albicans. One strain (S. aureus) formed a variant resistant to dioxidine at a concentration of 20 mg/ml, which exceeded the concentration of dioxidine in the complex preparation; other strains (P. aeruginosa, K. pneumoniae, C. albicans) did not form such variants. The data obtained indicate that the drug «Nosolin-ultra, nasal drops» can be effectively used against most pathogens of ENT infections. It is worth noting that with prolonged use of the drug for some types of ENT pathogens in the future, a slight decrease in effectiveness may be noted.

Keywords: *bacterial resistance; nosocomial infections; planktonic bacteria; biofilm.*

Для корреспонденции: *Детушева Елена Владимировна*, канд. биол. наук, науч. сотр. отд. мол. микробиологии лаб. антимикробных препаратов; e-mail: detushevaev@obolensk.org

DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-244-250

For citation: *Detusheva E.V., Fursova N.K., Korovkin S.A. Antimicrobial activity of dioxidine and a dioxidin-containing preparation «Nosolin-Ultra, nasal drops». Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2020; 65 (4): 244-250 (in Russ.). DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-244-250*

For correspondence: *Detusheva Elena Vladimirovna,* Ph.D. biol. Sci., Researcher, Department of Molecular Microbiology, Laboratory of Antimicrobial Preparations; e-mail mail: detushevaev@obolensk.org

Information about authors:

Detysheva E.V., http://orcid.org/0000-0003-3478-6534

Fursova N.K., http://orcid.org/0000-0001-6053-2621

Korovkin S.A., https://orcid.org/0000-0001-7890-4366

Conflict of interests. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 28.11.2019
Accepted 19.12.2019

В патологии ЛОР-органов важное место занимают инфекции верхних дыхательных путей, которые актуальны практически для всех категорий населения [1, 2]. Согласно статистическим отчётам Минздрава России, ежегодно регистрируются до 50 млн. случаев инфекционных заболеваний верхних дыхательных путей, среди которых около 10% составляют острые респираторные инфекции невирусной природы [3]. Заболевания верхних дыхательных путей и ЛОР-органов составляют 15% у пациентов амбулаторно-поликлинического звена Российской Федерации [4, 5].

Бактерии редко являются первопричиной инфекции ЛОР-органов, они часто вызывают осложнения после вирусного заболевания [6-8]. Среди основных этиологических агентов, вызывающих бактериальное поражение верхних дыхательных путей, важную роль играют *Streptococcus pneumoniae* (20-35%) и *Haemophilus influenzae* (6-26%) при остром риносинусите и обострении хронического риносинусита [9, 10]. Более редкими возбудителями риносинусита являются *Moraxella catarrhalis* и другие грамотрицательные бактерии (0-24%), *Streptococcus pyogenes* (1-3%, до 20% – у детей), *Staphylococcus aureus* (0-8%), анаэробы (0-10%) [11, 12].

Грамотрицательные бактерии *Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli, Proteus* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp. редки в качестве возбудителей острого синусита, но их роль существенно возрастает в госпитальных условиях для пациентов стационаров, у иммунокомпрометированных лиц (нейтропения, СПИД), у пациентов, получавших повторные курсы антибактериальной терапии [13, 14]. *H. influenzae*, реже *S. pneumoniae*, представители порядка *Enterobacterales,* неспорообразующие анаэробы, составляющие 5-10% от всех возбудителей гайморита и одонтогенного верхнечелюстного синусита, являются актуальными этиологическими агентами для ЛОР-инфекций [3, 15].

В ряде исследований описан высокий уровень персистенции возбудителей инфекций в организме человека, способствующий развитию носительства и рецидивов инфекции ЛОР-органов. При этом существенно возрастает уровень приобретённой антибиотикорезистентности патогенов, обусловливающий ухудшение состояния пациента, усложняющий и замедляющий лечение и достижение эрадикации бактериальных патогенов [16-18].

Важную роль в патогенезе инфекций ЛОР-органов играет способность возбудителей инфекций к образованию биоплёнок. Все основные респираторные патогены способны к образованию биоплёнок в организме человека [19]. Их наличие объясняет такие патологические состояния как хронический средний отит и хронический аденотонзиллит [15, 20].

Поиск новых лекарственных средств, обладающих способностью разрушать сформированные биоплёнки и препятствовать образованию новых биоплёнок, является актуальной задачей для фармакологии и клинической практики [21, 22]. Диоксидин и препараты на его основе могут рассматриваться как перспективные средства для лечения инфекционных заболеваний ЛОР-органов.

Цель исследования – оценка антибактериальной активности диоксидина и комплексного препарата «Носолин-ультра, капли назальные» против микроорганизмов – возбудителей ЛОР-инфекций – в планктонном состоянии и в форме бактериальных биоплёнок, изучение динамики формирования линий микроорганизмов, устойчивых к диоксидину, при селективном давлении препарата.

Материал и методы. *Антибактериальные препараты.* Диоксидин, 10 мг/мл (Фирн-М, Россия). Препарат «Носолин-ультра, капли назальные», содержащий диоксидина 10 мг/мл, дексаметазона 1 мг/мл, ксилометазолина 1 мг/мл (Фирн-М, Россия).

Штаммы микроорганизмов. Референс-штаммы микроорганизмов получены из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов «ГКПМ- Оболенск»: штаммы грамположительных бактерий *Streptococcus pyogenes* NCTC8198 (B-4806), *Streptococcus agalactiae* ATCC12386 (B-7829), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (B-2931), *Staphylococcus saprophyticus* CCM883 (B-4638), *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990 (B-4510); штаммы грамотрицательных бактерий *Moraxella catarrhalis* ATCC25238 (B-7454), *Haemophilus influenzae* ATCC10211 (B-10211), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC10145 (B-4890), *Klebsiella pneumoniae* 9633 NCTC/ ATCC 13883 (B-4811), *Proteus vulgaris* OX 19 ATCC 9484 (B-7564) и дрожжеподобных грибов *Candida albicans* ATCC10231 (B-7617). Клинические штаммы микроорганизмов, выделенные из клинических образцов при расследовании случаев инфекций в 2016-2017 гг., получены из рабочей коллекции лаборатории антимикробных препаратов ФБУН ГНЦ ПМБ: штаммы грамположительных бактерий *S. pyogenes* SN345, *S. aureus* 7775, *Micrococcus luteus* №1; штаммы грамотрицательных бактерий *M. catarrhalis* №1, *P. aeruginosa* B-86/17, *K. pneumoniae* B-86/18, *P. mirabilis* B-417/16, *Acinetobacter pittii* №6 и дрожжеподобных грибов *C. albicans* №16.

Идентификация микроорганизмов. Для видовой идентификации микроорганизмов использовали коммерческие API системы (bioMérieux, Франция), автоматический анализатор Vitek 2 Compact (bioMérieux, Франция) и масс-спектрометр MALDI-TOF Biotyper (Bruker, Германия).

Культивирование микроорганизмов. Для выращивания микроорганизмов использовали агар и бульон ГРМ (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия), питательную среду ГБМ (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия), агар и бульон Мюллера-Хинтон (Himedia, Мумбаи, Индия) и среду ГБМ (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия) [23]. Культивирование планктонных форм микроорганизмов проводили в течение 20-24 ч при температуре 37 ºС, биопленок – в течение 168 ч при температуре 37 ºС.

Культивирование биопленок. Выращивание биопленок тест-штаммов микроорганизмов проводили в 96-луночных планшетах, интенсивность биопленкообразования определяли с помощью окрашивания генцианом фиолетовым (HiMedia Laboratories, Индия) [24]. Кратко, процедура окрашивания включала в себя следующие процедуры: осторожное удаление остатков питательной среды с неприкрепившимися планктонными клетками; промывку биопленок в течение 2-3 мин стерильным буфером PBS (Merck, Германия) в том же объеме, в котором проходило культивирование; внесение в лунки планшета по 200 мкл отфильтрованного 0,1 %-ного раствора генциан фиолетового; окраску биопленки красителем в течение 10-15 мин при комнатной температуре; удаление красителя и промывку PBS буфером; удаление остатков буфера и высушивание; экстракцию красителя из биопленок раствором этанола-изопропанола (1:1) в объеме 200 мкл в течение 2-3 мин; перенос спиртового экстракта в чистый плоскодонный планшет; измерение оптической плотности суспензии при длине волны 590 нм на приборе xMark™ Microplate Absorbance Spectrophotometer (Bio-Rad, США). Результаты измерений интерпретировали, сравнивая показатели OD_{590} образцов с таковым негативного контроля. Отсутствие биопленки фиксировали при $OD_{образца} \leq OD_{контроля}$, слабую степень продукции биопленки – при $OD_{контроля} < OD_{образца} \leq 2\ OD_{контроля}$, среднюю степень продукции биопленки – при $2\ OD_{контроля} < OD_{образца} \leq 4\ OD_{контроля}$, высокую степень продукции биопленки – при $4\ OD_{контроля} < OD_{образца}$, в соответствии с рекомендациями Rodrigues et al., 2010 [25]. Все эксперименты проводили в трех повторностях.

Оценка антибактериальной активности препаратов для планктонных клеток. Чувствительность планктонных клеток микроорганизмов к изучаемым препаратам определяли методом серийных разведений на агаре [26]: на поверхность питательного агара, содержащего серийные разведения диоксидина (от 5 до 0,04 мг/мл) и препарата «Носолин-ультра, капли назальные» (от 2,5 до 0,08 мг/мл), наносили 10 мкл бактериальной суспензии тестируемого штамма в концентрации 10^7 КОЕ/мл и оставляли до полного впитывания микрокапли. Инкубировали при температуре 37 ºС в течение 72 ч. За минимальную бактерицидную концентрацию (МБК) принимали минимальную концентрацию препарата в питательной среде, при которой отсутствовал рост тест-культуры.

*Оценка антибактериальной активности препаратов для биопленок***.** Чувствительность биопленок микроорганизмов к изучаемым препаратам определяли методом аппликаторов [26]: поверхность питательного агара, не содержащего антимикробных препаратов, засевали 0,1мл суспензии исследуемой тест-культуры в концентрации 10^9 КОЕ/мл. Посевы инкубировали при температуре 37 ºС в течение 24 ч, после чего на поверхность бактериального газона накладывали при помощи стерильного пинцета стерильный целлюлозный аппликатор (7×7 мм) на 2-3 мин. Затем аппликатор с отпечатком культуры переносили стерильным пинцетом на поверхность агара в чашки Петри с питательной средой, содержащей серийные разведения диоксидина (от 5 до 0,04 мг/мл) или препарата «Носолин-ультра, капли назальные» (от 2,5 до 0,08 мг/мл), в ориентации «вниз бактериальным отпечатком». Чашки инкубировали при температуре 37 ºС в течение 72 ч, учитывали результаты. За МБК принимали минимальную концентрацию препарата, при которой отсутствовал рост культуры на аппликаторе и вокруг него.

Селекция бактерий, устойчивых к диоксидину. Селекцию устойчивых вариантов микроорганизмов осуществляли путем последовательных пересевов бактериальной культуры в новые порции питательного бульона, содержащего ступенчато повышающиеся концентрации препарата, начиная с концентрации, в два раза меньшей МБК [27]. Для этого готовили серию двукратных разведений препарата в объеме 4 мл питательного бульона и вносили в каждую пробирку по 50 мкл бактериальной культуры и инкубировали при температуре 37 ºС. После 2-3 дней инкубации из пробирки с максимальной концентрацией препарата, в которой наблюдался бактериальный рост, отбирали порцию 50 мкл и пересевали в новую серию пробирок с более высокими концентрациями диоксидина. Процесс селекции продолжали до момента, когда прекращалось увеличение значение МБК для данной культуры в течение пяти пересевов. Оценивали показатель МБК диоксидина для тест-культур в планктонном состоянии и сравнивали его с концентрацией диоксидина в комплексном препарате «Носолин-ультра капли назальные». При значении МБК ≤ 10 мг/мл делали вывод об эффективности комплексного препарата против данного штамма.

Детекция генов антибиотикорезистентности. Гены бета-лактамаз $bla_{CTX\text{-}M}$, bla_{TEM}, bla_{SHV}, $bla_{OXA\text{-}48}$, bla_{VIM}, bla_{NDM}, интегразы класса 1 (*int1*) и класса 2 (*int2*) и наборы генных кассет класса 1 (*ins1*) и класса 2 (*ins2*) определяли методом ПЦР [28] в клинических штаммах бактерий.

Статистическая обработка данных. Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли с помощью программы Microsoft Excel 2010. Результаты экспериментов были представлены как средняя величина и стандартное отклонение (ошибка среднего).

Результаты. В ходе исследования был использован разработанный нами ранее методический подход, позволяющий проводить сравнительный анализ чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам, в том числе к антисептикам и дезинфектантам, в планктонном состоянии и для биопленок [26].

Антимикробная активность диоксидина и препарата «Носолин-ультра капли назальные» против планктонных клеток возбудителей ЛОР-инфекций. Препарат диоксидин проявлял антимикробную активность против планктонных клеток всех использованных в работе грамотрицательных бактерий с МБК от 0,04 до 0,63 мг/мл, кроме клеток штамма *A. pittii* № 6 (МБК=5 мг/мл). Стоит особо подчеркнуть, что анти-

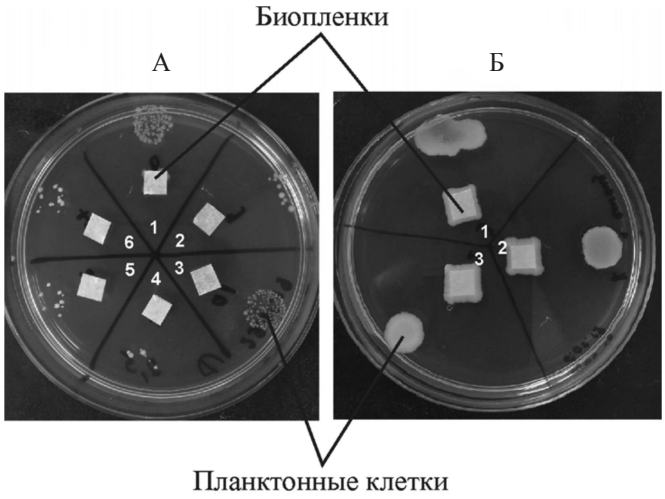


Рис. 1. Планктонные клетки и биопленки. А – отсутствие роста биопленок *S. aureus* ATCC25923 (1), *S. aureus* B- 7775 (2), *S. saprophyticus* CCM883 (3), *S. epidermidis* ATCC14990 (4), *K. pneumoniae* ATCC700603 (5) и *P. aeruginosa* ATCC27853 (6), на питательной среде Мюллера-Хинтон, содержащей 0,63 мг/мл диоксидина, на аппликаторах (биопленки) и в микрокаплях (планктонные клетки); Б – наличие роста биопленок *S. aureus* ATCC25923 (1), *S. aureus* B- 7775 (2), *S. saprophyticus* CCM883 (3) на питательной среде Мюллера-Хинтон, содержащей 0,08 мг/мл диоксидина.

Таблица 1

Оценка интенсивности биопленкообразования тест-штаммами микроорганизмов

Штаммы микроорганизмов	OD_{590}	Степень образования биопленки
Референс-штаммы		
S. pyogenes NCTC8198	0,369	высокая
S. agalactiae ATCC12386	0,345	средняя
S. aureus ATCC25923	0,383	высокая
S. saprophyticus CCM883	0,169	средняя
S. epidermidis ATCC14990	0,391	высокая
M. catarrhalis ATCC25238	0,255	средняя
H. influenzae ATCC10211	0,199	слабая
P. aeruginosa ATCC10145	0,377	высокая
K. pneumoniae ATCC13883	0,452	высокая
P. vulgaris ATCC9484	0,399	высокая
C. albicans ATCC10231	0,301	средняя
Клинические штаммы		
S. pyogenes SN345	0,299	средняя
S. aureus 7775	0,303	высокая
M. catarrhalis № 1	0,454	высокая
M. luteus № 1	0,468	высокая
P. aeruginosa B-86/17	0,368	высокая
A. pittii №6	0,338	средняя
K. pneumoniae B-86/18	0,383	высокая
P. mirabilis B-417/16	0,368	высокая
C. albicans № 16	0,341	средняя

септик проявлял активность против штаммов, несущих генетические детерминанты антибиотикорезистентности и имеющих фенотип множественной лекарственной устойчивости (MDR). Например, для штаммов *K. pneumoniae* B-86K/17-1 и *P. mirabilis* B-417/16, несущих гены бета-лактамаз bla_{TEM-1}, bla_{SHV-11}, $bla_{CTX-M-15}$ и интегроны класса 1 *int1(dfrA17-aadA5)* и *int1 (dfrA1-orfC),* а также интегрон класса 2 *int2(dfrA1-sat2-aadA1)*, МБК диоксидина составила 0,31-0,63 мг/мл.

Меньший уровень активности препарата отмечен против штаммов грамположительных бактерий и дрожжеподобных грибов *C. albicans* (МБК от 1,25 до >2,5 мг/мл), кроме планктонных клеток штамма *S. pyogenes* SN345, МБК диоксидина для которого составила 5 мг/мл (рис. 1).

Комплексный препарат «Носолин-ультра, капли назальные» также проявлял высокий уровень активности против планктонных клеток грамотрицательных бактерий (МБК=0,04-0,63 мг/мл), кроме клеток штамма *A. pittii* (МБК=2,5 мг/мл), и меньший уровень активности против планктонных клеток грамположительных бактерий и дрожжеподобных грибов *C. albicans* (МБК от 1,25 до >2,5 мг/мл).

Оценка интенсивности биопленкообразования тест-штаммами микроорганизмов. Использованный в ходе работы стандартный метод окрашивания биопленок генцианом фиолетовым, с последующей экстракцией красителя, позволил оценить уровень интенсивности биопленок, образованных клетками изучаемых штаммов микроорганизмов. Показано, что 12 штаммов образовывали биопленки высокой плотности, 7 штаммов – биопленки средней плотности, а один штамм – биопленки слабой плотности (табл. 1).

Антибактериальная активность диоксидина и препарата «Носолин-ультра капли назальные» против биопленок возбудителей ЛОР-инфекций. Препарат диоксидина проявлял антимикробную активность против сформированных биопленок всех использованных в работе штаммов микроорганизмов (МБК от 0,08 до 2,5 мг/мл), кроме штаммов *S. pyogenes* (МБК > 5 мг/мл) (см. рис.1). Комплексный препарат «Носолин-ультра, капли назальные» также проявлял высокий уровень активности биопленок (МБК от 0,02 до 0,31 мг/мл), кроме штаммов *S. pyogenes* (МБК >2,5 мг/мл) (табл. 2). Использованный методический подход не позволил определить значение МБК для штаммов стрептококков.

Отмечено, что МБК диоксидина для всех изученных в данном исследовании штаммов микроорганизмов в состоянии биопленок были несколько ниже или одинаковы, по сравнению с данным показателем для планктонных клеток, кроме штамма *M. catarrhalis* №1, у которого отмечено обратное соотношение (см. табл. 2). Наибольшая разница между значениями МБК, как для диоксидина, так и для препарата «Носолин-ультра, капли назальные» против планктонных клеток и биопленок отмечена для штаммов *S. aureus* и *C. albicans*, клетки которых в планктонном состоянии были менее чувствительны к антимикробному действию этих препаратов, но в состоянии биопленок были более чувствительны.

Динамика формирования устойчивости к диоксидину у возбудителей ЛОР-инфекций. Формирование устойчивости к диоксидину изучали на референс-штаммах *K. pneumoniae* ATCC13883, *P. aeruginosa* ATCC10145, *S. aureus* ATCC25923 и *C. albicans* ATCC10231, представителях видов микроорганизмов, которые относятся к наиболее характерным возбудителям инфекций верхних дыхательных путей.

Штамм *S. aureus* ATCC25923 в условиях селективного давления ступенчато повышающихся концентраций диоксидина сформировал высокий уровень устой-

Таблица 2

Антимикробная активность диоксидина и препарата «Носолин-ультра, капли назальные» против планктонных клеток и биопленок штаммов микроорганизмов – возбудителей ЛОР-инфекций

Штаммы микроорганизмов	МБК, мг/мл			
	Диоксидин		«Носолин-ультра, капли назальные»	
	Планктонные клетки	Биопленки	Планктонные клетки	Биопленки
Референс-штаммы				
S. pyogenes NCTC8198	5,0±0	>5,0	2,5±0	>2,5
S. agalactiae ATCC12386	5,0±1,4	>5,0	>2,5	2,5±0
S. aureus ATCC25923	5,0±1,4	2,5±0	1,25±0	1,25±0
S. saprophyticus CCM883	5,0±0	1,25±0,4	>2,5	0,63±0
S. epidermidis ATCC14990	2,5±0	1,25±0	>2,5	0,31±0,09
M. catarrhalis ATCC25238	0,31±0,09	0,16±0	0,31±0,09	0,02±0
H. influenzae ATCC10211	0,08±0,02	0,08±0,02	0,04±0,12	0,04±0
P. aeruginosa ATCC10145	1,25±0	0,63±0,2	0,63±0,2	0,16±0,05
K. pneumoniae ATCC13883	0,63±0	0,16±0	0,63±0,2	0,16±0
P. vulgaris ATCC9484	0,63±0,2	0,31±0,09	0,31±0	0,31±0
C. albicans ATCC10231	5,0±0	1,25±0	>2,5	1,25±0
Клинические штаммы				
S. pyogenes SN345	>5,0	>5,0	2,5±0,7	>2,5
S. aureus 7775	5,0±1,4	0,63±0	2,5±0,7	0,63±0
M. catarrhalis №1	0,16±0,05	0,63±0	0,16±0	0,16±0,05
M. luteus №1	2,5±0,7	1,25±0,7	2,5±0,7	0,16±0
P. aeruginosa B-86/17	0,63±0,2	0,63±0	0,16±0	0,16±0
A. pittii №6	5,0±0	0,31±0	>2,5	0,31±0
K. pneumoniae B-86/18	0,63±0,2	0,08±0	0,16±0,05	0,08±0
P. mirabilis B-417/16	0,31±0,09	0,08±0,02	0,31±0,09	0,16±0,05
C. albicans №16	5,0±0	1,25±0	2,5±0	0,16±0

чивости к этому препарату (МБК=20 мг/мл) в течение 34 дней (8 пассажей). Этот уровень устойчивости в два раза превысил концентрацию диоксидина в препарате «Носолин-ультра, капли назальные», а уровень МБК этого штамма в 4 раза, по сравнению с исходным. Для штамма *P. aeruginosa* ATCC1014 за 18 сут (5 пассажей) культивирования в условиях селективного давления диоксидина произошло повышение МБК диоксидина в 8 раз – до значения 10 мг/мл, то есть препарат «Носолин-ультра, капли назальные», содержащий 10 мг/мл диоксидина, эффективен против планктонных клеток этого штамма. Для штамма *C. albicans* ATCC10231 за 39 сут (10 пассажей) культивирования в условиях селективного давления диоксидина, значение МБК диоксидина увеличилось в 2 раза, до 10 мг/мл, что также говорит об эффективности комплексного препарата против данного штамма. Для штамма *K. pneumoniae* ATCC13883 за 29 сут (7 пассажей) культивирования в присутствии повышающихся концентраций диоксидина произошло повышение МБК препарата в 4 раза – до значения 2,5 мг/мл, не превышающего концентрацию диоксидина в препарате «Носолин-ультра, капли назальные» (рис. 2).

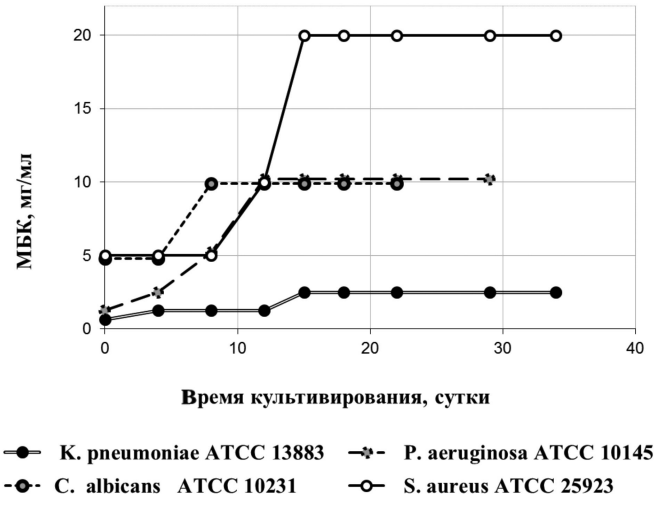


Рис. 2. Динамика повышения показателя минимальных бактерицидных концентраций диоксидина для штаммов *S. aureus* ATCC25923, *P. aeruginosa* ATCC10145, *C. albicans* ATCC10231, и *K. pneumoniae* ATCC13883.

Таким образом, в ходе исследования показано, что селективное давление диоксидина не привело к формированию у *P. aeruginosa, C. albicans* и *K. pneumoniae* вариантов, устойчивых к диоксидину в концентрациях, превышающих таковую в препарате «Носолин-ультра, капли назальные». Напротив, референс-штамм *S. aureus* в течение 34 дней (8 пассажей) сформировал устойчивый вариант к этому препарату.

Обсуждение. Проведено исследование *in vitro* антибактериальной активности комплексного препарата «Носолин-ультра, капли назальные», а также его основного антибактериального компонента – диоксидина – против возбудителей ЛОР-инфекций человека разных таксономических групп: грамположительных бактерий (*S. pyogenes, S. agalactiae, S. aureus, S. saprophyticus* и *S. epidermidis*), грамотрицательных бактерий (*M. catarrhalis, H. influenzae, P. aeruginosa, K. pneumoniae, P. vulgaris, A. pittii* и *P. mirabilis*) и дрожжеподобных грибов (*C. albicans*).

Показано, что изучаемый препарат проявлял более высокий уровень активности против грамотрицательных бактерий, чем против грамположительных бактерий и дрожжеподобных грибов, что согласуется с данными других исследователей, которые ранее сообщали о незначительной активности диоксидина или полном ее отсутствии в отношении некоторых грамположительных бактерий (*Staphylococcus spp., S. aureus* и *S. pyogenes*), а также дрожжеподобных грибов рода *Candida* [29, 30]. Важно, что тестируемый препарат антисептика оказался эффективным против клинических штаммов, несущих эпидемически значимые генетические детерминанты антибиотикорезистентности – гены бета-лактамаз $bla_{\text{TEM-1}}$, $bla_{\text{SHV-11}}$, $bla_{\text{CTX-M-15}}$ и интегроны классов 1 и 2 с генными кассетами устойчивости к аминогликозидам и сульфаниламидам

Интересно, что биопленки большинства использованных тест-штаммов микроорганизмов оказались более чувствительны к диоксидину и комплексному препарату «Носолин-ультра, капли назальные», чем планктонные клетки, что важно с учетом знаний о том, что многие возбудители ЛОР-инфекций в организме человека формируют биопленки [19]. Полученые нами данные согласуются с опубликованными ранее данными других авторов, которые сообщали, что диоксидин подавлял, например, рост биопленок *P. aeruginosa* ATCC9027 [31, 32].

В ходе исследования проведен анализ динамики формирования устойчивости к диоксидину у микроорганизмов – возбудителей ЛОР-инфекций разных таксономических групп. Только один штамм *S. aureus* ATCC25923 сформировал устойчивый к диоксидин-содержащему препарату «Носолин-ультра, капли назальные» вариант в ходе эксперимента, а штаммы *P. aeruginosa* ATCC10145, *K. pneumoniae* ATCC13883, и *C. albicans* ATCC10231 таких вариантов не сформировали, что указывает на возможность использования изучаемого препарата при длительной терапии ЛОР-органов.

Финансирование. *Работа выполнена в рамках НИР «Мониторинг и изучение свойств возбудителей пищевых и госпитальных инфекций, разработка средств их диагностики» Отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора на 2016-2020 гг.*

Конфликт интересов. *Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

ЛИТЕРАТУРА (пп. 6-9, 12, 15, 19, 21, 22, 24, 25, 27, 28 см. REFERENCES)

1. Афанасьева И.А. Комплексная терапия ОРВИ. *Русский медицинский журнал*. 2007; 15 (18): 1358-60.
2. Геппе Н.А., Дронов И.А., Малявина У.С. Рациональный подход к назначению и выбору антибактериальной терапии при инфекциях дыхательных путей и ЛОР-органов у детей. *Клиническая фармакология*. 2008; 1: 53-6.
3. Шишмаков А.А., Колесник Д.С., Толеуова Ж.Г.-К., Колоджиева В.В., Лебедева Е.А., Гончаров А.Е., и др. Эпидемиологическая оценка факторов риска распространения антибиотикорезистентных штаммов возбудителей инфекций верхних дыхательных путей и ЛОР-органов у детей. *Пермский медицинский журнал.* 2017; 34(4): 54-9.
4. Лучихин, Л.А., Миронов А.А., Гуров А.В. Медикаментозная терапия при тяжелых гнойно-воспалительных поражениях ЛОР-органов и их осложнениях. *Вестник оториноларингологии.* 2001; 4: 66–8.
5. Рязанцев С.В., Рябова М.А. ЛОР-инфекция вчера, сегодня, завтра. Эволюция возбудителей и прогресс терапии. *Эффективная фармакотерапия*. 2017; 30: 38-43.
10. Свистушкин В.М., Никифорова Г.Н., Петрова Е.И. Бактериальные инфекции ЛОР-органов: деликатная терапия. *Медицинский совет*. 2017; 8: 58-63.
11. Лопатин А.С. Местные антимикробные препараты в лечении инфекций верхних дыхательных путей. *Клиническая антимикробная химиотерапия*. 2000; 2(2): 58-61.
13. Туровский А.Б., Карюк Ю.А., Кондрашина В.В. Антибактериальная терапия инфекций ЛОР-органов. *Клиницист*. 2013; 3(4):98-103.
14. Федин А.В., Баранова Н.И., Дружинина Т.А., Починина Н.К. Иммунологические аспекты патогенеза острого бактериального риносинусита: выявление критериев хронизации процесса. *Иммунопатология, аллергология, инфектология*. 2014; 4:56-60.
16. Еремин С.А., Рязанцев С.В., Коноплёв О.И. Рациональный выбор антибактериального препарата для терапии ЛОР-органов в амбулаторной практике. *Медицинский совет*. 2018; 20: 8-12.
17. Коваленко Н.И., Замазий Т.Н., Новикова И.В., Тараненко Г.П. Анализ антибиотикорезистентности возбудителей бактериальных инфекций ЛОР-органов. *Проблемы здоровья и экологии*. 2017; 53(3):31-5.
18. Сидоренко С.В., Никифорова Г.Н, Корнева О.В., Рязанцев С.В. Международные рекомендации по терапии ЛОР-инфекций: что применимо в российской действительности. *Эффективная фармакотерапия*. 2016; 20:28-36.
20. Тулупов, Д. А., Карпова Е. П. О роли бактериальной микрофлоры в этиологии хронического аденоидита у детей. *Вопросы современной педиатрии*. 2014; 13(1): 172–5.
23. Подкопаев Я.В, Домотенко Л.В., Морозова Т.П., Храмов М.В., Шепелин А.П. Отечественные питательные среды для диагностики гнойных бактериальных менингитов. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2015; 5: 59-64.
26. Детушева Е.В., Родин В.Б., Слукин П.В., Чугунов В.А., Ершова О.Н., Александрова И.А. и др. Чувствительность нозокомиальных штаммов *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii* и *Proteus mirabilis* к антисептику на основе хлоргексидина. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2015; 17(1): 57-66.
29. Падейская Е.Н. Сложные вопросы антимикробной химиотерапии. *Инфекционная и антимикробная терапия*. 2017; 3(5): 31-6.
30. Яковлев В.П., Яковлева С.В. Руководство «Рациональная антимикробная фармакотерапия». Москва: Литтерра; 2015.
31. Козлов С.Н., Страчунский Л.С., Белоусова Ю.Б. *Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии. Современная антимикробная химиотерапия. Руководство для врачей*. Смоленск: Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии; 2007.
32. Плотников Ф.В. Комплексное лечение пациентов с гнойными ранами в зависимости от способности микроорганизмов-возбудителей формировать биопленку. *Новости хирургии*. 2014; 22(5): 575-81.

REFERENCES

1. Afanasyeva I.A. ARVI complex therapy. *Russkiy meditsinskiy zhurnal*. 2007; 15 (18): 1358-60. (in Russian)
2. Geppe N.A., Dronov I.A., Malyavina U.S. A rational approach to the appointment and selection of antibiotic therapy for infections of the respiratory tract and ENT organs in children. *Klinicheskaya farmakologiya*. 2008; 1: 53-6. (in Russian)
3. Shishmakov A.A., Kolesnik D.S., Toleuova ZH.G.-K., Kolodzhieva V.V., Lebedeva E.A., Goncharov A.E., i dr. Epidemiological assessment of risk factors for the spread of antibiotic-resistant strains of pathogens of upper respiratory tract infections and ENT organs in children. *Permskiy meditsinskiy zhurnal*. 2017; 34 (4): 54-9. (in Russian)
4. Luchihin L.A., Mironov A.A., Gurov A.V. Drug therapy for severe purulent-inflammatory lesions of the ENT organs and their complications. *Vestnik otorinolaringologii.* 2001; 4: 66–8. (in Russian)
5. Ryazantsev S.V., Ryabova M.A ENT infection yesterday, today, tomorrow. Pathogen evolution and treatment progress. *Effektivnaya farmakoterapiya*. 2017; 30: 38-43. (in Russian)

6. Luk L.J., DelGaudio J.M. Topical Drug Therapies for Chronic Rhinosinusitis. *Otolaryngol. Clin. North Am*. 2017; 50(3): 533-43.
7. Chow A.W., Benninger M.S., Brook I., Brozek J.L., Goldstein E.J., Hicks L.A. et al. Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis*. 2012; 54(8): 72-112.
8. Russell M.D., Russell M.S. Urgent Infections of the Head and Neck. *Med. Clin. North Am*. 2018; 102(6):1109-20.
9. Liu Z., Norman G., Iheozor-Ejiofor Z., Wong J.K., Crosbie E.J., Wilson P. Nasal decontamination for the prevention of surgical site infection in *Staphylococcus aureus* carriers. *Cochrane Database Syst. Rev*. 2017; 5:CD012462.
10. Svistushkin V.M., Nikiforova G.N., Petrova E.I. Svistushkin V.M., Nikiforova G.N., Petrova E.I. Bacterial infections of ENT organs: delicate therapy. *Meditsinskiy sovet*. 2017; 8: 58-63. (in Russian)
11. Lopatin A.S. Local antimicrobials in the treatment of upper respiratory tract infections. *Klinicheskaya antimikrobnaya khimioterapiya*. 2000; 2 (2): 58-61. (in Russian)
12. Cordesmeyer R., Kauffmann P., Markus T., Sömmer C., Eiffert H., Bremmer F., et al. Bacterial and histopathological findings in deep head and neck infections: a retrospective analysis. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol*. 2017; 124(1):11–5.
13. Turovskiy A.B., Karyuk Yu.A., Kondrashina V.V. Antibacterial therapy of infections of ENT organs. *Klinitsist*. 2013; 3 (4): 98-103. (in Russian)
14. Fedin A.V., Baranova N.I., Druzhinina T.A., Pochinina N.K. Immunological aspects of the pathogenesis of acute bacterial rhinosinusitis: identification of criteria for the chronicity of the process. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya*. 2014; 4: 56-60. (in Russian)
15. Viveros N.M. Biofilms en otorrinolaringologia. *Acta Otorrinolaringol. Esp*. 2014; 65(1): 47-52.
16. Eremin S.A., Ryazancev S.V., Konoplyov O.I. The rational choice of an antibacterial drug for the treatment of ENT organs in outpatient practice. *Meditsinskiy sovet*. 2018; 20: 8-12. (in Russian)
17. Kovalenko N.I., Zamaziy T.N., Novikova I.V., Taranenko G.P. Analysis of antibiotic resistance of pathogens of bacterial infections of ENT *organs. Problemy zdorov´ya i ekologii.*2017; 53 (3): 31-5. (in Russian)
18. Sidorenko S.V., Nikiforova G.N, Korneva O.V., Ryazancev S.V. Analysis of antibiotic resistance of pathogens of bacterial infections of ENT organs. *Effektivnaya farmakoterapiya*. 2016; 20: 28-36. (in Russian)
19. Calo L., Passali G.C., Galli J., Fadda G., Paludetti G. Role of biofilms in chronic inflammatory diseases of the upper airways. *Adv. Otorhinolaryngol*. 2011; 72: 93–6.
20. Tulupov D. A., Karpova E. P. . On the role of bacterial microflora in the etiology of chronic adenoiditis in children. *Voprosy sovremennoy pediatrii*. 2014; 13 (1): 172–5. (in Russian)
21. Kanagalingam J., Feliciano R., Hah J.H., Labib H., Le T.A., Lin J.C. Practical use of povidone-iodine antiseptic in the maintenance of oral health and in the prevention and treatment of common oropharyngeal infections. *Int. J. Clin. Pract*. 2015; 69(1):1247-56.
22. Hathroubi S., Mekni M. A., Domenico P., Nguyen D., Jacques M. Biofilms: Microbial Shelters Against Antibiotics. *Microb. Drug Resist.* 2017; 23(2): 147-56.
23. Podkopaev YA.V, Domotenko L.V., Morozova T.P., Hramov M.V., SHepelin A.P. Domestic culture media for the diagnosis of purulent bacterial meningitis. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2015; 5: 59-64. (in Russian)
24. O'Toole G.A., Kolter R. Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: a genetic analysis. *Mol. Microbiol.* 1998; 28(3): 449-61.
25. Rodrigues L.B., Dos Santos L.R., Tagliari V.Z., Rizzo N.N., Trenhago G., de Oliveira A.P., Goetz F., do Nascimento V.P. Quantification of biofilm production on polystyrene by *Listeria, Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* isolated from a poultry slaughterhouse. *Braz. J. Microbiol*. 2010; 41(4): 1082-5.
26. Detusheva E.V., Rodin V.B., Slukin P.V., CHugunov V.A., Ershova O.N., Aleksandrova I.A. et al. Sensitivity of nosocomial strains of *Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii* and *Proteus mirabilis* to a chlorhexidine-based antiseptic. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2015; 17 (1): 57-66. (in Russian)
27. Braoudaki M., Hilton A. C. Adaptive Resistance to Biocides in Salmonella enterica and Escherichia coli O157 and Cross-Resistance to Antimicrobial Agents. *J. Clin. Microbiol.* 2004; 42(1): 73–8.
28. Lev A.I., Astashkin E.I., Kislichkina A.A., Solovieva E.V., Kombarova T.I., Korobova O.V. et al. Comparative analysis of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated in 2012-2016 that differ by antibiotic resistance genes and virulence genes profiles. *Pathog. Glob. Health*. 2018; 112 (3): 142-51.
29. Padeyskaya E.N. Challenges of antimicrobial chemotherapy. *Infektsionnaya i antimikrobnaya terapiya*. 2017; 3 (5): 31-6. (in Russian)
30. Yakovlev V.P., YAkovleva S.V. Guide "Rational antimicrobial pharmacotherapy" [Rukovodstvo. Ratsional´naya antimikrobnaya farmakoterapiya]. Moscow: Litterra; 2015. (in Russian)
31. Kozlov S.N., Strachunskij L.S., Belousova Yu.B. A Practical Guide to Anti-Infectious Chemotherapy. Lying. antimicro. chemo. hands for doctors. Smolensk: Mezhregional'naya assotsiatsiya po klinicheskoy mikrobiologii i antimikrobnoy khimioterapii; 2007. (in Russian)
32. Plotnikov F.V. Comprehensive treatment of patients with purulent wounds, depending on the ability of microorganisms-pathogens to form a biofilm. *Novosti khirurgii*. 2014; 22(5): 575-81. (in Russian)

Поступила 28.11.19
Принята к печати 19.12.19

DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-251-257

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Сужаева Л.В.[1], Макарова М.А.[1,2], Кафтырева Л.А.[1,2]

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ГРУППЫ И ГЕНЫ ВИРУЛЕНТНОСТИ ШТАММОВ *ESCHERICHIA COLI*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА ДЕТЕЙ

[1]ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера Роспотребнадзора, 197101, Санкт-Петербург, Россия;
[2]ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава РФ, 191015, Санкт-Петербург, Россия

Вид Escherichia coli характеризуется широким внутривидовым разнообразием. Среди представителей вида присутствуют как комменсалы, так и патогены, вызывающие диареи и заболевания внекишечной локализации. Патогенные штаммы отличаются от непатогенных наличием факторов вирулентности и кодирующих их генов. Филогенетическая структура вида представлена четырьмя основными группами (A, B1, B2, D), распространенность которых отличается у жителей различных географических регионов. Патогенные представители вида давно и подробно изучаются, в то время как непатогенным штаммам не уделялось такое внимание. В статье представлены результаты исследования 511 штаммов E. coli, выделенных из микробиоты кишечника детей без диареи и инфекций мочевыводящих путей, в возрасте от 1 мес до 17 лет, проживающих в Санкт-Петербурге. Методом ПЦР определены основные филогенетические группы, выявлены гены вирулентности E. coli, ассоциированные с диареей и заболеваниями внекишечной локализации. Результаты: Структура популяции E. coli представлена следующими группами: A – 33,3%, B1 – 6,7%, B2 – 34,0%, D – 26%. В исследуемой популяции выявлено EPEC – 2,5%, EAggEC – 4,5% штаммов. Гены вирулентности EPEC чаще выявлялись у штаммов филогруппы B1, гены вирулентности EAggEC – у изолятов филогруппы D. Распространенность генов внекишечной вирулентности была следующей: pap – 29,5%; sfa – 19,8%; afa – 3,3%; hly – 20,9%; cnf – 17,4%; aer – 20,0%. Гены pap, sfa, hly, cnf были наиболее характерны для E. coli филогенетической группы B2. Выявлено сходство структуры исследуемой популяции E. coli по филогенетическим группам с популяциями E. coli жителей Парижа и Сиднея. Анализ распространенности генов вирулентности показал зависимость их наличия от генетического фона микроорганизма.

Ключевые слова: *Escherichia coli; филогенетические группы; микробиота кишечника; гены вирулентности; EPEC; EAggEC.*

Для цитирования: *Сужаева Л.В., Макарова М.А., Кафтырева Л.А. Филогенетические группы и гены вирулентности штаммов Escherichia coli, выделенных из микробиоты кишечника детей. Клиническая лабораторная диагностика.2020; 65 (4): 251-257. DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-251-257*

Suzhaeva L.V.[1], Makarova M.A.[1, 2], Kaftyreva L.A.[1,2]

PHYLOGENETIC GROUPS AND VIRULENCE GENES OF *ESCHERICHIA COLI* STRAINS ISOLATED FROM THE CHILDREN GUT MICROBIOTA

[1]Saint-Petersburg Pasteur Institute, 197101, Saint-Petersburg, Russia;
[2]State Educational Institution of the Higher Professional Education «North-Western state medical University N.A. I.I. Mechnikov» of the Ministry of Health of the Russian Federation

Escherichia coli is characterized by a wide intraspecific diversity. The species includes both commensals and pathogens that cause diarrhea and extra-intestinal diseases. Pathogenic strains differ from non-pathogenic ones by the presence of virulence factors and their genes. The phylogenetic structure of the species is represented by four main groups (A, B1, B2, D), which differ in their prevalence among residents of different geographical regions. Pathogenic members of the species have been studied in detail, while non-pathogenic strains have not received such attention. This report presents the results of a study of 511 E. coli strains isolated from the gut microbiota of children without diarrhea and urinary tract infections, aged from 1 month to 17 years, living in St. Petersburg. The main phylogenetic groups were determined by PCR, and E. coli virulence genes associated with diarrhea and extra-intestinal diseases were identified. Results: population structure of E. coli is represented by the following groups: A-33.3%, B1-6.7%, B2-34.0%, D-26%. In the studied population 2.5% of strains belonded to EPEC and 4.5% to EAggEC. EPEC virulence genes were more often detected in strains of phylogroup B1, and EAggEC virulence genes in isolates of phylogroup D. The prevalence of extra – intestinal virulence genes was as follows: pap – 29.5%; sfa – 19.8%; afa – 3.3%; hly – 20.9%; cnf – 17.4%; aer-20.0%. The pap, sfa, hly, and cnf genes were detected mostly in the B2 phylogenetic group. Obtained data shows the similarity of E. coli phylogenetic groups structure in St. Petersburg with E. coli populations isolated from residents of Paris and Sydney. Analysis of the virulence genes prevalence showed the dependence of their presence on the genetic background bacteria.

Keywords: *Escherichia coli; phylogenetic groups; gut microbiota; virulence genes; EPEC; EAggEC.*

For citation: *Suzhaeva L.V., Makarova M.A., Kaftyreva L.A. Phylogenetic groups and virulence genes of Escherichia coli strains isolated from the children gut microbiota. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2020; 65 (4): 251-257. (in Russ.). DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-251-257*

For correspondence*: Suzhaeva L.V.,* junior researcher of laboratory of enteric infections : e-mail: slv2211@yandex.ru

Information about authors:
Suzhaeva Ludmila V., https://orcid.org/0000-0001-7292-9933
Makarova Maria A., https://orcid.org/0000-0003-3600-2377
Kaftyreva Lidiya A., https://orcid.org/0000-0003-0989-1404

Conflict of interest. *The authors declare no conflict of interest.*
Acknowledgment. *The study had no sponsorship.*

Received 13.02.2020
Accepted 21.02.2020

Для корреспонденции: *Сужаева Людмила Валерьевна*, мл. науч. сотр. лаб.кишечных инфекций; e-mail: slv2211@yandex.ru

Введение. *Escherichia coli* – широко распространенный, неспорообразующий факультативно анаэробный микроорганизм, обитающий в дистальных отделах кишечника человека и животных [1], водах поверхностных водоемов [2] и почве [3].

E. coli – облигатный представитель микробиоты кишечника человека. Эти бактерии участвуют в усвоении и биотрансформации питательных веществ [4], поддержании колонизационной резистентности [5], синтезируют широкий спектр витаминов [6,7], жирных кислот [8], нейропептидов [9], формируют и стимулируют работу всех звеньев иммунной системы [10]. Они колонизируют кишечник новорожденного в первые часы после рождения и сохраняются в течение всей жизни [11].

Среди множества представителей вида встречаются патотипы, вызывающие диареи, характеризующиеся различными патогенетическими механизмами, и заболевания внекишечной локализации (инфекции мочевыводящих путей, бактериемии, менингит новорожденных). Патогенные для человека *E. coli* отличаются от непатогенных наличием факторов вирулентности и кодирующих их генов.

Наличие специфических генов вирулентности (инвазинов, шигаподобных токсинов, термолабильных и термостабильных токсинов, белка интимина, пучок-формирующих пилей, агрегативно-адгерентных фимбрий) позволяет безошибочно выявлять патотипы диареегенных штаммов: энтероинвазивные (EIEC), энтерогеморрагические (EHEC), энтеротоксигенные (ETEC), энтеропатогенные (EPEC), энтероагрегативные (EAggEC) *E. coli* [12].

Штаммы *E. coli*, вызывающие внекишечные заболевания (ExPEC), обладают широким спектром факторов вирулентности: адгезины, токсины, системы захвата железа, гемолизины, капсулы [13]. Эти факторы нередко обнаруживают и у штаммов *E. coli* – представителей микробиоты кишечника [14]. Они играют важную роль в адгезии к слизистой кишечника, повышении выживаемости, защите от поглощения простейшими. Для возникновения внекишечного заболевания необходимо наличие комплекса факторов вирулентности у штамма *E. coli* и предрасполагающих факторов со стороны макроорганизма [15]. Основой классификации ExPEC является локализация патологического процесса. Выделяют уропатогенные (UPEC), септицемические (SEPEC), менингитассоциированные (MNEC) *E. coli*.

Способность заселять различные места обитания, иметь широкий круг хозяев, вызывать заболевания различной локализации делает *E. coli* идеальным модельным организмом для изучения эволюции бактерий, их адаптации к различным экологическим нишам и условиям существования. В то время как патогенные представители вида имеют длительную историю изучения, подробным исследованием комменсальных штаммов занялись относительно недавно.

Вид *Escherichia coli* представлен семью филогенетическими группами (A, B1, B2, D, E, F, C), четыре из которых являются основными (A, B1, B2, D). Группировка основных кластеров была проведена на основании данных мультилокусного электрофореза ферментов (MLEE) 72 штаммов *E. coli*, выделенных от человека и животных разных континентов [16]. Анализ полных геномов *E. coli* показал, что средний геном содержит 4721 ген, но только 1976 из них образуют основной геном каждого штамма. Пан-геном *E. coli* содержит более 17000 генов, и эта цифра будет расти с увеличением количества проанализированных секвенированных штаммов. Геном *E.coli* представляет собой динамичную структуру вследствие происходящих в нем процессов рекомбинации. Несмотря на это, клональность структуры вида сохраняется, так как встраивание новых генов происходит только в определенных зонах, так называемых «горячих точках» интеграции [17].

Штаммы основных филогенетических групп отличаются по частоте выявления в различных экологических нишах [1,3], размеру генома [18], наличию генов вирулентности и способности вызывать заболевания [19, 20], фенотипическим характеристикам [4], профилям устойчивости к антимикробным препаратам [21], скоростью роста и способностью образовывать биопленки [22]. Таким образом, можно многое узнать о характеристиках неизвестного штамма *E. coli*, определив его принадлежность к филогенетической группе.

Цель исследования – определить филогенетический профиль популяции *E. coli*, выделенных из проб испражнений детей разных возрастных групп. Выявить генетические детерминанты факторов вирулентности и определить их распространенность в штаммах *E. coli* основных филогенетических групп.

Материал и методы. Материалом для исследования послужили 511 штаммов *E.coli*, выделенных в 2012-2014 гг. из испражнений детей без диареи и инфекций мочевыводящих путей в возрасте от 1 мес. до 17 лет, проживающих на территории Санкт-Петербурга.

Детекцию генов, определяющих принадлежность *E. coli* к филогенетической группе, проводили по методу O.Clermont [23]. Дифференциацию ДНК различных групп диареегенных *E. coli* (EPEC, ETEC, EIEC, EHEC, EAgEC) проводили методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией с использованием набора реагентов «АмплиСенс® Эшерихиозы-FL» согласно инструкции производителя.

Методом ПЦР с электрофоретической детекцией со специфическими праймерами выявляли гены ExPEC, кодирующие продукцию: пиелонефрит-ассоциированных пилей или P-фимбрий (*pap*), S-фимбрий (*sfa*), афимбриального адгезина (*afa),* α-гемолизина (*hlyB*), цитонекротического фактора (*cnf*), аэробактина *(aer)* согласно ранее опубликованным протоколам [24 – 26].

Полученные данные обработали с использованием программы SPSS 13. Достигнутый уровень значимости различий определяли с использованием критерия сопряженности χ^2 Пирсона. 95% доверительные интервалы долей и частот рассчитывали по методу Уилсона.

Результаты. В изученной популяции *E. coli* были представлены штаммы четырех основных филогрупп. Доля изолятов филогенетической группы A составляла 32,7% (95% ДИ: 28,8 – 36,9); группы B1 – 7,2% (95% ДИ: 5,3 – 9,8); группы B2 – 33,3% (95% ДИ: 29,3 – 37,5); группы D – 26,8% (95% ДИ: 23,2 – 30,8).

Анализ частоты встречаемости *E. coli* каждой филогенетической группы у детей разного пола (χ^2=1,575; df=3; *p*=0,665) и возраста (χ^2=7,080; df=9; *p*=0,629) свидетельствовал об отсутствии статистически значимых отличий.

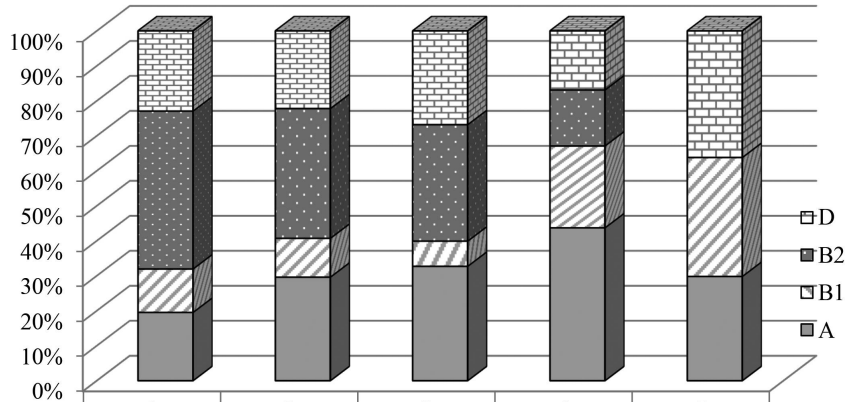
При сравнении филогенетической структуры исследуемой популяций *E. coli* с популяциями *E. coli* жителей других географических регионов выявлена наибольшая схожесть с популяциями *E. coli* жителей Парижа [27] и Сиднея [27], в которых преобладали штаммы филогруп-

пы B2, были значительные и практически равные доли филогрупп A и D и незначительная доля изолятов группы B1, в отличие от популяций *E. coli* жителей Фучжоу (Китай) [28] и провинции Чонам в Южной Корее [29], где доля штаммов филогруппы B1 была значительно выше (рис. 1).

При дифференциации патотипов диареегенных эшерихий гены, характерные для энтероинвазивных, энтерогеморрагических и энтеротоксигенных *E. coli,* у исследуемых штаммов выявлены не были. У 2,5% (95% ДИ:1,5 – 4,3) штаммов выявлены гены энтеропатогенных *E. coli*, у 4,5% (95% ДИ:3,0 – 6,7) – гены энтероагрегативных *E. coli*.

Частота выделения EPEC у детей разных возрастных групп статистически значимо не отличалась ($\chi2$=3,216; df=1; p=0,124). В группе до 1 года EPEC были обнаружены в 1,7% проб, старше 1 года – в 4,4% проб. Частота обнаружения EPEC среди *E. coli* различных филогенетических групп имела значимые различия ($\chi2$=44,472; df=3; p<0,001). Наибольшая доля штаммов EPEC была обнаружена среди представителей филогруппы B1 (18,9%), наименьшие среди представителей филогенетических групп B2 и D (0,6% и 0,6% соответственно). В группе A на долю EPEC приходилось 2,4% штаммов (рис. 2).

Частота выделения EAggEC в пробах от детей разных возрастных групп статистически значимо не отличались ($\chi2$=1,717; df=1; p=0,248). EAggEC были выявлены в 3,7% проб от детей до года и в 6,3% проб от детей старше года. Частота обнаружения EAggEC среди *E. coli* различных филогенетических групп была не одинакова ($\chi2$=28,612; df=3; p<0,001). Наибольшая доля штаммов EAggEC была обнаружена среди представителей филогруппы D (12,4%), наименьшие среди представителей филогенетических групп B2 и B1 (0,6% и 0% соответ-



	1	2	3	4	5
D	22,9	22,2	26,8	16,9	36,2
B2	45,1	37,1	33,3	16	0
B1	12,4	11,1	7,2	23,4	34
A	19,5	29,6	32,7	43,7	29,8

Рис. 1. Доли основных филогенетических групп в структурах популяций *E. coli (в %)*, выделенных из микробиоты кишечника жителей Сиднея (1), Парижа (2), Санкт-Петербурга (3), Фучжоу (4), провинции Чонам (5).

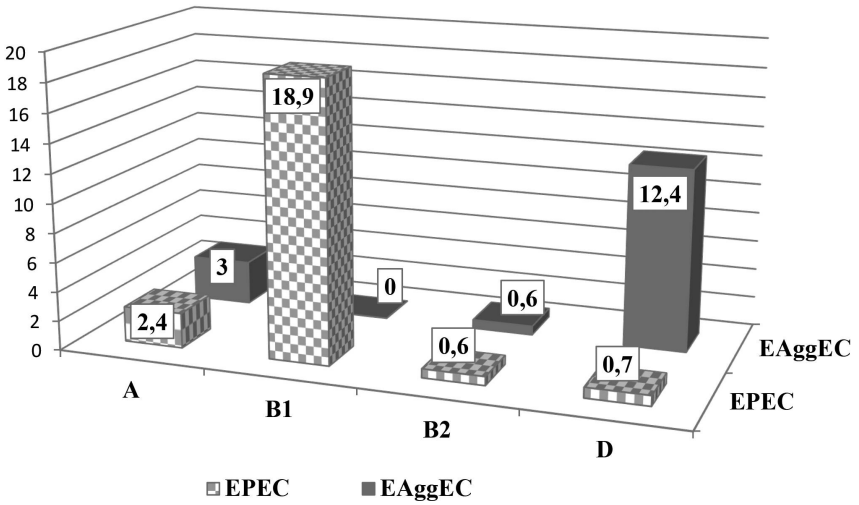


Рис. 2. Доли EPEC и EAggEC (в %) среди штаммов *E. coli* основных филогенетических групп. EPEC – энтеропатогенные *E. coli*; EAggEC – энтероагрегативные *E. coli.*

ственно). В группе А к EAggEC относились только 3,0% штаммов (рис. 2).

Из множества генов, обнаруживаемых у ExPEC, для детекции были выбраны гены наиболее часто встречающиеся у UPEC, характеризующие различные этапы возможного инфекционного процесса: адгезины (*pap*, *sfa, afa),* токсины (*cnf, hlyB*), гены железосвязывающих систем (*aer*).

У 38,2% исследуемых штаммов указанные гены не обнаружены. В геноме 61,8% изолятов присутствовал как минимум один из перечисленных генов. Максимальное количество анализируемых детерминант вирулентности в одном геноме (четыре) выявлено у 2,2% штаммов. Третья часть изолятов *E. coli* содержали один ген, пятая часть штаммов – два гена, десятая часть штаммов – три из исследуемых генов. Наполненность геномов детерминантами вирулентности не одинакова у изолятов различных филогенетических групп. Как минимум один из исследуемых генов встречался у 9 из 10 штаммов филогенетической группы B2, у 7 из 10 – группы D, у 4 из 10 – группы A, у 2 из 10 – группы B1.

Доли штаммов, несущие единичные гены, варьировали от 18,9% (группа B1) до 31,4% (группа D) и статистически значимо не отличались между филогруппами. Доли штаммов, несущих два из исследуемых генов, в филогруппах B2 и D были практически одинаковы (25,9% и 27,7%, соответственно) и значительно отличались от долей в филогруппах A и B1 (6,0% и 0% соответственно). Присутствие трех генов наиболее характерно для штаммов филогруппы B2 (25,3%), что значимо отличало их от других филогрупп, где доли таких штаммов варьировали от 2,7 до 8,8%. Четыре гена обнаружены только у штаммов групп B2 (5,9%) и A (0,6%).

Гены, кодирующие факторы адгезии, обнаружены у 38,7% *E. coli*. Из генов трех исследуемых адгезинов, чаще остальных выявлялись гены P-фимбрий – 29,5%. Гены S-фимбрии обнаруживали у 19,8% штаммов, афимбриального адгезина у 3,3% штаммов. У трети штаммов, имеющих в своем геноме детерминанты адгезинов, обнаружены две разновидности генов одновременно (в большинстве случаев P- и S-фимбрии). Сочетание генов *pap+afa* выявлено у 5,6% штаммов. Другие комбинации и сочетанное присутствие генов трех адгезинов обнаружено не было.

Доли штаммов, несущих в геноме детерминанты факторов адгезии, не одинаковы среди представителей различных филогрупп. *Pap*-гены больше представлены среди штаммов филогенетической группы B2 и D (46,7 % и 38,7 % соответственно), что значительно ($\chi2$=77,036; df=3; p<0,001) отличалось от изолятов филогруппы A и B1, где доли *pap*(+) штаммов составляли 9,6% и 2,7% соответственно. *Sfa*-гены больше представлены среди штаммов филогенетической группы B2 (45,9%), чем среди штаммов других филогрупп. Распространенность *afa*-генов статистически значимо не отличалась среди исследуемых штаммов ($\chi2$=4,492; df=3; p=0,213) (см.таблицу).

Гены, кодирующие продукцию токсинов: α-гемолизина (*hlyB*) и цитонекротического фактора (*cnf*) присутствовали у 35,0% исследуемых штаммов. *HlyB*-ген обнаружен у 20,9% штаммов, *cnf*-ген – у 17,4% штаммов, при этом сочетанное присутствие этих генов выявлено в 3,3% случаев.

Аналогично генам адгезинов, гены токсинов имели разную распространенность среди изолятов различных филогрупп. Гены, кодирующие α-гемолизин, чаще встречались у штаммов филогруппы B2 и D (30,0% и 23,4% соответственно), чем у группы A и B1 (13,2% и 5,4% соответственно). Гены, кодирующие цитонекротический фактор, чаще обнаруживали у штаммов филогруппы B2 (37,1%). В остальных филогруппах доля *cnf* (+) изолятов находилась в пределах от 0% до 13,1%. (см.таблицу).

Сочетанным присутствием генетических детерминант этих токсинов отличалась группа B2 ($\chi2$=11,336; df=3; p=0,011), где доля *hly* (+) *cnf* (+) изолятов составила 7,1%, тогда как в филогруппе A – 1,8%, в группе D – 1,5%, в группе B1 такие штаммы отсутствовали.

Пятая часть изучаемых штаммов содержала в составе генома ген сидерофора аэробактина. Его частота встречаемости статистически значимо не отличалась у *E. coli* различных филогенетических групп (χ^2=0,691; df=3; p=0,875) (см.таблицу). Следует отметить, что ген аэробактина значительно чаще (29,5%) обнаруживался у штаммов, в которых отсутствовали гены α-гемолизина и цитонекротического фактора (χ^2=54,186; df=1; p=0,000). В то время как аналогичный показатель у *cnf* (+) штаммов составлял 5,6%, у *hly* (+) штаммов гены аэробактина не обнаружены.

Гены вирулентности у штаммов *E. coli* основных филогенетических групп

Ген вирулентности		Филогенетические группы				Всего (n=511)	Значение критерия χ^2 (df=3)	Уровень значимости, p
		A (n=167)	**B1** (n=37)	**B2** (n=170)	**D** (n=137)			
pap	абс	16	1	81	53	151	77,036	<0,001
	%	9,6	2,7	47,6	38,7	29,5		
sfa	абс	7	1	78	15	101	112,17	<0,001
	%	4,2	2,7	45,9	10,9	19,8		
afa	абс	4	0	5	8	17	4,492	0,213
	%	2,4	0	2,9	5,8	3,3		
hlyB	абс	22	2	51	32	107	20,391	<0,001
	%	13,2	5,4	30,0	23,4	20,9		
cnf	абс	8	0	63	18	89	73,656	<0,001
	%	4,8	0	37,1	13,1	17,4		
aer	абс	35	6	32	29	102	0,691	0,875
	%	21,0	16,2	18,8	21,2	20,0		

Анализ распространенности комбинаций генов с различной функциональной нагрузкой (адгезинов, токсинов, факторов персистенции) показал, что у 30,5% штаммов присутствовали гены одной функциональной группы, у 30,7% изолятов выявлена комбинация генов двух функциональных групп. У трех из 511 штаммов (0,6%) обнаружены гены факторов вирулентности трех функциональных групп (адгезинов, токсинов и сидерофора). Эти штаммы принадлежали филогенетической группе B2.

Обсуждение. Анализ распределения долей филогенетических групп в структуре исследуемой популяции *E. coli* не позволяет выявить преобладающую группу, так как группы A, B2, D представлены практически в равном соотношении и суммарно составляют более 90%. Наименьшая доля штаммов относится к группе B1.

При сравнении структуры исследуемой популяции *E. coli* со структурами популяций, выделенных от жителей других географических регионов обращает на себя внимание сходство с популяциями *E. coli* жителей мегаполисов Франции [27] и Австралии [27], где также нельзя выявить ведущую филогруппу, а группа B1 представлена незначительно. Подобная структура значительно отличается от структуры популяции *E. coli,* выделенной от жителей Фучжоу [28] и провинции Чонам [29], где значительная доля штаммов относится к группе B1 и A, а группа B2 представлена незначительно или вообще отсутствует.

Учитывая разницу климатических условий в Санкт-Петербурге, Париже и Сиднее, одинаковое соотношение долей анализируемых показателей можно объяснить сходством условий проживания жителей мегаполисов и потребляемых ими пищевых продуктов. Отличия указанных мегаполисов от корейской провинции Чонам можно связать с различиями между сельскими жителями и горожанами (питание, санитарно-гигиенические условия, объем контакта с природной средой). Ключом к пониманию различий между Санкт-Петербургом и Фучжоу, возможно, является уклад жизни и традиции. Этим же можно объяснить и сходство между сельскими и городскими жителями Азии.

Исследования распространенности *E. coli* определенных филогенетических групп в кишечнике различных видов животных показали зависимость частоты обнаружения от массы тела, скорости транзита пищи, длины ЖКТ и диеты [1]. У людей разного пола варьирует длина кишечника (у мужчин длиннее чем у женщин), отличается время транзита пищи (у женщин дольше чем у мужчин) и рацион питания. Все эти характеристики также подвержены и возрастным изменениям [30, 31]. Поэтому мы проанализировали филогенетическую структуру популяции *E. coli* в группах детей, разделенных по возрастному и половому признаку, но значимых отличий не выявили. Вероятно, гендерные и возрастные отличия можно выявить при исследовании проб от взрослых со значительной разницей в возрасте.

В своем исследовании методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией мы выявили в пробах фекалий детей без признаков диареи некоторые патотипы диареегенных *E. coli* (EPEC – 2,5%; EAggEC – 4,5%). ETEC, EIEC, EHEC патотипы выявлены не были.

Анализ литературных данных показал, что выявление EPEC у так называемых бессимптомных носителей не является редкостью. Исследование проб фекалий 5197 детей без симптомов гастроэнтерита в возрасте от 0 до 4 лет в Нидерландах выявило EPEC в 19,9 % проб [32]. Согласно данным многоцентрового исследования причин диареи в развивающихся странах частота обнаружения энтеропатогенных *E. coli* в фекалиях детей в возрасте от 0 до 1 года без симптомов диареии составляет в Индии – 9,2%; Пакистане -7,5%; Бразилии -18,8%; Перу – 4,8% [33].

Находки EPEC у бессимптомных носителей можно объяснить рядом причин, как со стороны макро- так и микроорганизма. Невосприимчивость к данной инфекции связана: с отсутствием рецепторов, к которым прикрепляется *E. coli* этого патотипа; с иммунным статусом макроорганизма, который предотвращает клинические проявления, но не препятствует колонизации; с наличием у детей раннего возраста Jg A в кишечнике (секреторного и получаемого с грудным молоком матери), который препятствует прикреплению к энтероцитам, но не убивает бактерию [34].

Кроме того, EPEC представляют собой гетерогенную группу штаммов, вирулентность которых варьирует. Некоторые штаммы вызывают диарею чаще, чем другие при одинаковой дозе заражения. В настоящее время отсутствуют тесты, позволяющие выявлять высоковирулентные штаммы.

Находки EPEC, возможно, были связаны еще и с тем, что пробы были взяты незадолго до начала заболевания, либо после стихания симптомов, когда микроорганизм уже или еще присутствовал в кишечнике. EPEC, как патогены, не имеют значения у детей старше двух лет и взрослых, однако, присутствие таких штаммов в кишечнике бессимптомных носителей не исключает риск их передачи членам семьи или воспитанникам детских учреждений, но отсутствие симптомов значительно снижает риск заражения.

В нашем исследовании методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в 4,5% проб фекалий детей без признаков диареи были выявлены EAggEC. Отличительной особенностью и золотым стандартом идентификации EAggEC является характер прикрепления бактерий к клеткам HEp-2 в виде слоистого кирпичного узора при электронной микроскопии. В настоящее время применяются и молекулярно-генетические методы идентификации, основанные на выявлении *aggR*-гена. Однако, не все имеющие *aggR*-ген штаммы имеют характерный способ прикрепления, равно как и не все, прикрепляющиеся в виде кирпичной кладки, клетки имеют *aggR*-ген [12].

Штаммы EAggEC часто встречаются в микробиоте здоровых лиц. Распространенность изолятов с такими свойствами отличается в разных географических регионах. Результаты многоцентрового исследования показали, что в Непале, Бразилии, Индии, Перу, Танзании они встречались у 24-37% детского населения, в то время как, например, в Японии лишь в 3,5% случаев [33]. Исследования штаммов, выделенных при диарее в разных регионах, показали их генетическое разнообразие. При экспериментальном заражении добровольцев четырьмя различными штаммами EAggEC, выделенными от больных, только один штамм вызвал диарею, причем не у каждого испытуемого [35].

Методом ПЦР с электро-форетической детекцией в штаммах, выделенных из микробиоты кишечника детей без признаков инфекции мочевыводящих путей, были выявлены гены, традиционно считающиеся маркерами уропатогенных *E. coli*. Доли штаммов, несущих гены

вирулентности, были не одинаковы среди представителей различных филогенетических групп. Группой, наиболее наполненной исследуемыми генами адгезинов и токсинов, была филогруппа B2. Далее по наполненности следует группа D. Группы A и B1 менее всего наполнены генами, часто встречающимися у уропатогенных изолятов. Эти факты позволяют предположить отличия в размере генома штаммов различных филогрупп. Подтверждением этому служат работы зарубежных исследователей, где показано, что размер генома у штаммов филогенетической группы A и B1 не превышает 5 млн. п. н. (4,78 и 4,86 соответственно) в отличие от групп B2 и D (5,09 и 5,23 соответственно). Это является результатом потери и/или приобретения генетических элементов в процессе адаптации к различным видам хозяев, экологическим нишам и условиям существования [18].

Полученные нами результаты совпадают и с результатами шведских исследователей, изучавших резидентные штаммы *E. coli*, выделенные из микробиоты кишечника здоровых шведских детей. Это исследование показало, что большинство (60%) резидентных штаммов принадлежало к филогенетической группе B2 и геном резидентных изолятов в отличие от транзиторных чаще содержал гены кодирующие P-фимбрии, α-гемолизин, аэробактин, капсульные антигены K1 и K5. Эти факторы способствовали длительному сохранению *E. coli* в кишечнике детей. В связи с этим F. Nowrouzian и соавт. [14] выдвинули гипотезу о том, что так называемые факторы вирулентности способствуют колонизации и персистенции штаммов *E. coli* в ЖКТ и являются факторами приспособляемости, а не специфическими факторами вирулентности.

Заключение. Структура популяции *E. coli,* выделенных из микробиоты кишечника детей без диареи и инфекций мочевыводящих путей, проживающих в Санкт-Петербурге, была представлена следующими филогенетическими группами: A – 32,7%; B1 – 7,2%; B2 – 33,3%; D – 26,8% и статистически значимо не отличалась у детей разного пола и возраста. Подобное соотношение сходно со структурами популяций *E. coli* жителей Парижа и Сиднея.

Штаммы *E. coli* различных филогенетических групп, выделенные из микробиоты кишечника детей без диареи и инфекций мочевыводящих путей, содержали гены диареегенных и уропатогенных эшерихий. Распространенность штаммов, обладающих генами вирулентности EPEC, была выше в филогенетической группе B1; генами вирулентности EAggEC – в группе D; генами вирулентности ExPEC – в группе B2. Это свидетельствует о влиянии генетического фона микроорганизма на присутствие в нем определенных генов вирулентности.

Конфликт интересов. *Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

Финансирование. *Исследование не имело спонсорской поддержки.*

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Escobar-Páramo P., Le Menac'h A., Le Gall T., Amorin C., Gouriou S., Picard B. et al. Identification of forces shaping the commensal *Escherichia coli* genetic structure by comparing animal and human isolates. *Environmental Microbiology*. 2006; 8:1975-84. Doi:10.1111/j.1462-2920.2006.01077.x.
2. Hansen S., Messer T., Mittelstet A., Berry E. D., Bartelt-Hunt S., Abimbola O. Escherichia coli concentrations in waters of a reservoir system impacted by cattle and migratory waterfowl. *Science of The Total Environment*. 2020; 705:135607. Doi:10.1016/j.scitotenv.2019.135607.
3. Dusek N., Hewitt A. J., Schmidt K. N., Bergholz, P. W. Landscape-Scale Factors Affecting the Prevalence of Escherichia coli in Surface Soil Include Land Cover Type, Edge Interactions, and Soil pH. *Applied and environmental microbiology*. 2018; 84(10): e02714-17. Doi:10.1128/AEM.02714-17.
4. Vieira G., Sabarly V., Bourguignon P. Y., Durot M., Le Fèvre F., Mornico D. et al. Core and panmetabolism in *Escherichia coli*. *Journal of bacteriology*. 2011; 193(6): 1461–72. Doi:10.1128/JB.01192-10.
5. Christofi T., Panayidou S., Dieronitou I., Michael C., Apidianakis, Y. Metabolic output defines Escherichia coli as a health-promoting microbe against intestinal Pseudomonas aeruginosa. *Scientific reports*. 2019; 9(1): 14463. Doi:10.1038/s41598-019-51058-3.
6. Dempsey W. B. Control of Vitamin B6 Biosynthesis in Escherichia coli. *Journal of bacteriology.* 1971; 108(1):415-21. https://jb.asm.org/content/jb/108/1/415.full.pdf.
7. Meganathan R., Kwon O. Biosynthesis of Menaquinone (Vitamin K 2) and Ubiquinone (Coenzyme Q). EcoSal Plus. 2009; 3(2): 10.1128/ecosalplus.3.6.3.3. Doi:10.1128/ecosalplus.3.6.3.3.
8. Zampieri M., Hörl M., Hotz F., Müller N. F., Sauer, U. Regulatory mechanisms underlying coordination of amino acid and glucose catabolism in Escherichia coli. Nature communications. 2019; 10(1): 3354. doi:10.1038/s41467-019-11331-5.
9. Rieder R., Wisniewski P.J., Alderman B.L., Campbell S.C. Microbes and mental health: A review. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2017; 66: 9-17. Doi: 10.1016/j.bbi.2017.01.016.
10. Brestoff J. R., Artis, D. Commensal bacteria at the interface of host metabolism and the immune system. *Nature immunology*. 2013; 14(7): 676–84. Doi:10.1038/ni.2640.
11. Mackie R. I., Sghir A., Gaskins H. R. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. The American Journal of Clinical Nutrition*.* 1999; 69(5): 1035–45. Doi:10.1093/ajcn/69.5.1035s.
12. Kaper J. B., Nataro J. P., Mobley H. L. Pathogenic Escherichia coli. Nature Reviews *Microbiology.* 2004; 2:123–40. Doi:10.1038/nrmicro818.
13. Lüthje P., Brauner A. Virulence factors of uropathogenic E. coli and their interaction with the host author links open overlay panel. Advances in Microbial Physiology. 2014; 65: 337-72. Doi:10.1016/bs.ampbs.2014.08.006.
14. Nowrouzian F., Hesselmar B., Saalman R. Strannegard I., Aberg N., Wold A. E. et al. *Escherichia coli* in Infants' Intestinal Microflora: Colonization Rate, Strain Turnover, and Virulence Gene Carriage. *Pediatric Research.* 2003; 54**:** 8–14. Doi:10.1203/01.PDR.0000069843.20655.EE.
15. Lefort A., Panhard X., Clermont O., Woerther P., Branger C., Mentré F. et al. Host Factors and Portal of Entry Outweigh Bacterial Determinants To Predict the Severity of *Escherichia coli* Bacteremia. *Journal of Clinical Microbiology*. 2011; 49(3): 777-83. Doi:10.1128/JCM.01902-10.
16. Ochman H., Selander, R. K. Standard reference strains of Escherichia coli from natural populations. *Journal of bacteriology.* 1984; 157(2): 690–3. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC215307/pdf/jbacter00237-0354.pdf.
17. Hendrickson H. Order and disorder during Escherichia coli divergence. PLoS genetics. 2009; 5(1): e1000335. Doi:10.1371/journal.pgen.1000335.
18. Bergthorsson U., Ochman H., Distribution of chromosome length variation in natural isolates of *Escherichia coli. Molecular Biology and Evolution*. 1998; 15(1): 6–16. Doi :10.1093/oxfordjournals.molbev.a025847.
19. Ejrnæs K., Stegger M., Reisner A., Ferry S., Monsen T., Holm S. E et al. Characteristics of *Escherichia coli* causing persistence or relapse of urinary tract infections: Phylogenetic groups, virulence factors and biofilm formation. *Virulence.* 2011; 2(6): 528-37. Doi: 10.4161/viru.2.6.18189.
20. Coura F.M., Araújo D.S., Mussi J.M.S., Silva M.X., Lage A.P., Heinemann M. B. Characterization of virulence factors and phylogenetic group determination of Escherichia coli isolated from

diarrheic and non-diarrheic calves from Brazil. *Folia Microbiologica*. 2017; 62(2): 139–44. Doi: 10.1007/s12223-016-0480-9.

21. Wu H., Xia S., Bu F., Qi J., Liu Y., Xu H. Identification of integrons and phylogenetic groups of drug-resistant Escherichia coli from broiler carcasses in China. *International Journal of Food Microbiology*. 2015; 211: 51-6. Doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2015.07.004.
22. Nielsen D.W., Klimavicz J.S., Cavender T., Wannemuehler Y., Barbieri N.L, Nolan L.K. et al. The Impact of Media, Phylogenetic Classification, and E. coli Pathotypes on Biofilm Formation in Extraintestinal and Commensal *E. coli* From Humans and Animals. *Frontiers in microbiology*. 2018; 9: 902. Doi: 10.3389/fmicb.2018.00902.
23. Clermont O., Bonacorsi S., Bingen E. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Applied and environmental microbiology*. 2000; 66: 4555–8. Doi: 10.1128/aem.66.10.4555-4558.2000.
24. Nowrouzian F., Adlerberth I., Wold A. E. P fimbriae, capsule and aerobactin characterize colonic resident Escherichia coli. Epidemiology and infection. 2001; 126(1): 11–8. Doi:10.1017/s0950268801005118.
25. Abe C.M., Salvador F.A., Falsetti I.N., Vieira M.A., Blanco J., Blanco J.E.et al. Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) strains may carry virulence properties of diarrhoeagenic *E. coli*. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 2008; 52: 397-406. Doi:10.1111/j.1574-695X.2008.00388.x.
26. Zhu Y., Dong W., Ma J. L., Yuan H., Hejair M.A., Pan Z. et al. Characterization and virulence clustering analysis of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli. BMC Veterinary Research*. 2017; 13: 94. Doi 10.1186/s12917-017-0975-x.
27. Bailey J. K., Pinyon J. L., Anantham S., Hall R. M. Distribution of Human Commensal *Escherichia coli. Journal of Clinical Microbiology*. 2010; 48(9): 3455-6. Doi**:**10.1128/JCM.00760-10.
28. Li B., Sun J. Y., Han L. Z., Huang X. H., Fu Q., Ni Y. X. Phylogenetic groups and pathogenicity island markers in fecal Escherichia coli isolates from asymptomatic humans in China. *Applied and environmental microbiology*. 2010; 76(19): 6698-700. Doi: 10.1128/AEM.00707-10.
29. Unno T., Han D., Jang J., Lee S. N., Ko G., Choi H. Y. et al. Absence of Escherichia coli phylogenetic group B2 strains in humans and domesticated animals from Jeonnam Province, Republic of Korea. *Applied and environmental microbiology*. 2009; 75: 5659-66. Doi: 10.1128/AEM.00443-09.
30. Graft J., Brinch K., Madsen, J. L. Gastrointestinal mean transit times in young and middle-aged healthy subjects. *Clinical Physiology*. 2001; 21: 253–9. Doi:10.1046/J.1365-2281.2001.00308.X.
31. Hounnou G., Destrieux C., Desme J., Bertrand P., Velut, S. Anatomical study of the length of the human intestine. *Surgical and Radiologic Anatomy*. 2002; 24: 290–4. Doi: 10.1007/s00276-002-0057-y.
32. Enserink R., Scholts R., Bruijning-Verhagen P., Duizer E., Vennema H., Boer R.et al. High detection rates of enteropathogens in asymptomatic children attending day care. *PLoS One*. 2014; 9(2): e89496. Doi: 10.1371/journal.pone.0089496.
33. Platts-Mills J.A., Babji S., Bodhidatta L., Gratz J., Haque R., Havt A. et al. Pathogen-specific burdens of community diarrhoea in developing countries: a multisite birth cohort study (MAL-ED). *Lancet Glob Health*. 2015; 3:e564–575. Doi: 10.1016/S2214-109X(15)00151-5.
34. Newburg D.S., Ruiz-Palacios G.M., Morrow A.L. Human milk glycans protect infants against enteric pathogens. *Annual Review of Nutrition*. 2005; 25: 37–58. Doi:10.1146/annurev.nutr.25.050304.092553.
35. Nataro J.P., Deng Y., Cookson S., Cravioto A., Savarino S.J., Guers L.D. et al. Heterogeneity of enteroaggregative *Escherichia coli* virulence demonstrated in volunteers. *The Journal of Infectious Diseases*. 1995; 171(2): 465–8. Doi:10.1093/infdis/171.2.465.

Поступила 13.02.20
Принята к печати 21.02.20

RUSSIAN CLINICAL LABORATORY DIAGNOSTICS. 2020; 65(4)
DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-258-264

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Столяр М.А.[1], Горбенко А.С.[1], Бахтина В.И.[2,3], Мартынова Е.В.[2], Москов В.И.[2], Михалёв М.А.[4], Ольховик Т.И.[4], Хазиева А.С.[2], Ольховский И.А.[1,5]

ИССЛЕДОВАНИЕ УРОВНЯ МИКРОРНК MIR-155 В КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ И PH-НЕГАТИВНЫМИ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ

[1] Красноярский филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава РФ, 660036, Красноярск, Россия;
[2] КГБУЗ Краевая клиническая больница, 660022, Красноярск, Россия;
[3] ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава РФ, 660022, Красноярск, Россия;
[4] КГБУЗ Красноярская межрайонная клиническая больница №7, 660003, Красноярск, Россия;
[5] ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный Центр Сибирского отделения РАН», 660036, Красноярск, Россия

МикроРНК miR-155 участвует в различных физиологических процессах в клетке, включая кроветворение, иммунитет, воспаление и дифференцировку. Повышенная экспрессия miR-155 наблюдается при многих злокачественных заболеваниях, в том числе при лимфомах, остром миелолейкозе и ХЛЛ. Однако до сих пор сравнительное исследование экспрессии miR-155 в лейкоцитах крови у пациентов с хроническими миело- и лимфопролиферативными заболеваниями не проводилось.

Цель: исследовать экспрессию микроРНК miR-155 в клетках крови пациентов с хроническим лимфоцитарным лейкозом (ХЛЛ) и ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями (ХМН). Проведено исследование экспрессии miR-155 в лейкоцитах крови 28 пациентов с В-ХЛЛ, 52 пациентов с ХМН и 51 донора методом количественной ПЦР в режиме «реального времени». В результате исследования выявлено увеличение miR-155 в лейкоцитах крови как у пациентов с ХЛЛ, так и у пациентов с ХМН по сравнению с группой контроля. В соответствии с результатами ROC-анализа, чувствительность и специфичность тестирования лейкоцитов крови на miR-155 составили 81,8% и 78,4% для ХЛЛ и 55,1% и 82,4% для ХМН соответственно. У пациентов с ХЛЛ, получающих терапию, уровень miR-155 был значительно ниже по сравнению с теми, кто не получал терапию, однако интерферонотерапия не влияла на уровень miR-155 в лейкоцитах крови пациентов с ХМН. Полученные данные подтверждают участие miR-155 в патогенезе хронических миело- и лимфопролиферативных заболеваний и позволяют предположить возможность использования теста miR-155 для оценки эффективности терапии ХЛЛ.

Ключевые слова: *микроРНК miR-155; хронический лимфоцитарный лейкоз; хронические миелопролиферативные новообразования.*

Для цитирования: *Столяр М.А., Горбенко А.С., Бахтина В.И., Мартынова Е.В., Москов В.И., Михалёв М.А., Ольховик Т.И., Хазиева А.С., Ольховский И.А. Исследование уровня микроРНК miR-155 в крови пациентов с хроническим лимфолейкозом и Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями. Клиническая лабораторная диагностика. 2020; 65 (4): 258-264. DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-258-264*

Stolyar M.A.[1], Gorbenko A.S.[1], Bakhtina V.I.[2,3], Martynova E.V.[2], Moskov V.I.[2], Mikhalev M.A.[4], Olkhovik T.I.[4], Hazieva A.S.[2], Olkhovskiy I.A.[1,5]

INVESTIGATION OF MIR-155 LEVEL IN THE BLOOD OF PATIENTS WITH CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA AND PH-NEGATIVE MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASMS

[1]Krasnoyarsk branch of the «National Research Center for Hematology» Department of Health, Krasnoyarsk, Russian Federation;
[2] Krasnoyarsk regional clinic Hospital, Krasnoyarsk, Russian Federation;
[3]Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V.F. Vojno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation;
[4]Krasnoyarsk city clinical Hospital №7, Krasnoyarsk, Russian Federation;
[5]Federal Research Center Krasnoyarsk Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

MiR-155 is involved in various physiological processes in the cell, including hematopoiesis, immunity, inflammation and differentiation. Increased expression of miR-155 is observed in many malignant diseases, including lymphomas, acute myeloid leukemia and CLL. However, a comparative study of the miR-155 expression in the blood leukocytes in patients with chronic myeloid and lymphoproliferative diseases has not yet been carried out. To investigate the expression of miR-155 in the blood cells

Для корреспонденции: *Ольховский Игорь Алексеевич*, канд. мед. наук, доц. Красноярского филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава РФ, ст. науч. сотр. ФГБУН «Красноярский научный центр» СО РАН, e-mail: krashemcenter@mail.ru

DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-258-264

of patients with lympho- and ph-negative myeloproliferative neoplasms. MiR-155 expression were studied in the blood leukocytes of 28 patients with B-CLL, 52 patients with MPN and 51 donors by "real time" PCR method. The study revealed an increase in miR-155 in blood leukocytes in both patients with CLL and patients with MPN compared with the control group. In accordance with the results of the ROC analysis, the sensitivity and specificity of blood leukocytes testing on miR-155 expression level was 81.8% and 78.4%, respectively, for CLL and 55.1% and 82.4%, respectively, for MPN. At the same time, in patients with CLL who received therapy, the level of miR-155 was significantly lower compared with those who did not receive therapy. Thus, the involvement of miR-155 in the pathogenesis of chronic myeloid and lymphoproliferative diseases was demonstrated.

K e y w o r d s : *miR-155; chronic lymphocytic leukemia; chronic myeloproliferative neoplasms.*

For citation: *Stolyar M.A., Gorbenko A.S., Bakhtina V.I., Martynova E.V., Moskov V.I., Mikhalev M.A., Olkhovik T.I., Hazieva A.S., Olkhovskiy I.A. Investigation of miR-155 level in the blood of patients with chronic lymphocytic leukemia and Ph-negative myeloproliferative neoplasms. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2020; 65 (4): 258-264. (in Russ.). DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-258-264*

For correspondence: *Olkhovskiy I.A.,* PhD, docent, director of Krasnoyarsk branch of the «National Research Center for Hematology» Department of Health, research fellow of the Krasnoyarsk Scientific Center SB RAS; e-mail: krashemcenter@mail.ru

Information about authors:

Stolyar M.A., http://orcid.org/0000-0002-8037-9844;

Gorbenko A.S., http://orcid.org/0000-0001-8756-2660;

Mikhalev M.A., https://orcid.org/0000-0003-3769-3405;

Olkhovik T.I., https://orcid.org/0000-0002-4526-1920;

Khazieva A.S., https://orcid.org/0000-0001-7525-6981;

Olkhovskiy I.A., http://orcid.org/0000-0003-2311-2219

Acknowledgment. *The present study was conducted in the framework of the research initiative "Study of the diagnostic value of miR-155 miRNA and its association with the level of mRNA HIF 1a and 2a in the blood cells of patients with CLL, CML and Ph-negative myeloproliferative neoplasms No. AAAA-A18-118031390161-0".*

Conflict of interest. *The authors declare no conflict of interest.*

Received 14.01.2020
Accepted 27.01.2020

Введение. МикроРНК представляют собой некодирующие синтез белка молекулы РНК длиной не более 20-22 нуклеотидов. В большинстве случаев микроРНК взаимодействуют с 3'- или 5'-нетранслируемыми областями мРНК-мишеней для подавления или активации экспрессии генов. Известно также о взаимодействии микроРНК с другими областями генома, включая также ДНК последовательности промоторов отдельных генов [1].

Многочисленные исследования выявили важную роль микроРНК в регуляции различных ключевых биологических процессов, таких как пролиферация и дифференцировка клеток, эмбриогенез, метаболизм, органогенез, апоптоз, онкогенез и т.д. Внеклеточные (циркулирующие) и внутриклеточные микроРНК широко известны также и как потенциальные биомаркеры при различных заболеваниях [2,3]. Показано, что микроРНК играют исключительно важную роль на каждом этапе гемопоэза [4]. МикроРНК вовлечены в патогенез различных злокачественных новообразований, где они могут функционировать как онкогены, способствуя возникновению и прогрессированию опухоли, или как опухолевые супрессоры, предотвращая онкогенез.

На сегодняшний день miR-155 – хорошо охарактеризованная микроРНК иммунной системы, один из ключевых элементов тонкой настройки воспалительного ответа [5]. Дезрегуляция miR-155 вовлечена в канцерогенез при развитии лимфом, воздействуя на пролиферацию и выживание опухолевых клеток [6]. На мышиных моделях показано, что нарушение регуляции miR-155 в В-лимфоцитах ассоциировано с развитием острого лимфобластного лейкоза и экспериментальных лимфом [7]. Также известно, что miR-155 в миелоидных клетках участвует в патогенезе миелопролиферативных заболеваний [8].

Вместе с тем, данные по оценке диагностического значения miR-155 у пациентов с онкогематологическими заболеваниями весьма противоречивы. В ряде исследований показано, что уровень miR-155 был значительно увеличен в клетках крови у пациентов как с ХЛЛ, так и с хроническими миелопролиферативными новообразованиями (ХМН) по сравнению с группой доноров [5, 9]. Однако не было выявлено однозначной связи с другим прогностическим маркером ХЛЛ – экспрессией ZAP-70 [10, 11].

Параллельное сравнительное исследование уровня микроРНК miR-155 в венозной крови у пациентов с разными вариантами онкогематологических заболеваний до настоящего времени не проводилось. Неизвестно, отражает ли уровень miR-155 в лейкоцитах крови эффективность используемой терапии.

Цель работы – исследование экспрессии микроРНК miR-155 в клетках крови пациентов с лимфо- и Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиям и влияния на уровень miR-155 используемой терапии.

Материал и методы. В настоящее исследование были включены пробы крови 28 пациентов с В-ХЛЛ, 66 проб пациентов с диагнозом истинная полицитемия (ИП), 24 пробы крови пациентов с эссенциальной тромбоцитемией (ЭТ) и 12 проб крови пациентов с миелофиброзом (МФ), характеристика групп представлена в табл. 1. Диагноз онкогематологического заболевания верифицировали в соответствии с клиническими рекомендациями [12, 13]. В группу контроля был включен 51 донор крови. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом, все больные подписали информированное согласие на участие в данном исследовании.

Таблица 1

Характеристика обследованных групп

Показатели	Контроль	ХЛЛ	ХМН		
			ИП	ЭТ	МФ
Количество проб	51	30	66	24	12
Лейкоциты, $x10^9$/мл	-	48 (10-120)	8,0 (6,8-10,4)	5,5 (4,7-6,5)	5,8 (3,0-18,7)
Количество пациентов	51	28	30	13	9
Мужчины, *n* (%)	22 (43)	27 (91)	35 (52)	9 (46)	11 (83)
Возраст, годы, медиана (мин.-макс.)	23 (19-58)	60 (42-78)	53 (21-76)	52 (36-76)	67 (59-79)
Стадия заболевания по Binet, количество					
A	-	2	-	-	-
B		15			
C		11			
Наличие терапии на момент анализа, количество					
Интерферон-α					
получали	0	0	10	6	0
не получали	51	30	20	7	9
Терапия по схеме R-FC, R-B, R-L, R-CHOP, R-BAC, R-CD					
получали	0	16	0	0	0
не получали	51	12	30	13	9

Таблица 2

Аналитическая вариация miR-155

Параметры	miR-155			RNU6B		
	Среднее	SD	CV, %	Среднее	SD	CV, %
Ct	26,4	0,38	1,3	18,8	0,29	1,5
Относительная экспрессия	0,9	0,23	26			

Периферическую венозную кровь забирали утром натощак в вакутейнеры с ЭДТА. Выделение РНК осуществляли из лейкоцитов крови методом фенол-хлороформной экстракции с использованием микроколонок. Обратную транскрипцию проводили с использованием специфического к hsa-miR-155-5p петлевого праймера [14] в объеме реакционной смеси 25 мкл с использованием амплификатора «Терцик» в течение 30 мин при 16°С, затем 30 мин при 42°С, 5 мин при 82°С.

ПЦР в режиме «реального времени» (ПЦР-РВ) проводили на приборе CFX96 (BioRad). Последовательности специфических прямого и обратного праймеров использовались в соответствии с указанными в работе [12]. Последовательность TaqMan-зонда была подобрана с использованием программы Primer3. Амплификацию проводили по следующему протоколу: 95°С 5 мин, [95°С 15 с, 58°С 60 с] х 50 циклов, детекция по каналу FAM. Для нормирования результатов использовали малую ядерную РНК RNU6B. Расчет результатов амплификации осуществляли с использованием метода ΔΔCt. Аналитическая вариация метода составляла не более 3%. Все пробы анализировали в двух повторах в ПЦР-РВ. Стандартное отклонение между дубликатами составляло не более 0,5 значения порогового цикла.

Анализ результатов проводили с помощью программы для статистической обработки данных Statistica 12.0. Сравнение количественных значений между независимыми группами осуществляли с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни, результаты считали статистически значимыми при значении $p<0,05$. Для анализа корреляции использовали метод Спирмена. С целью оценки диагностических возможностей miR-155 был проведен ROC-анализ с использованием программного обеспечения MedCalc, расчет стандартной ошибки и площади под ROC-кривой (AUC) осуществляли с использованием метода DeLong с соавт.

Результаты. Для оценки аналитической вариации уровня экспрессии miR-155 в лейкоцитах проводили измерения в пробах крови трех пациентов, при этом каждая проба анализировалась в трех разных аналитических сериях.

Показатель уровня miR-155 характеризовался широкой вариацией значений как группе контроля, так и среди пациентов (см. рис. 1). При этом уровень экспрессии микроРНК miR-155 был значительно ниже в пробах крови доноров, чем у пациентов с ИП, ЭТ и ХЛЛ (см. рис. 1), у пациентов с МФ наблюдалась тенденция к его повышению ($p=0,06$). Выявлено также, что уровень miR-155 был значимо ниже у пациентов с ИП, чем у пациентов с ХЛЛ ($p<0,05$), хотя в целом, отличий между группами пациентов с ХМН и ХЛЛ не наблюдалось. При этом уровень miR-155 у пациентов в ремиссии после стандартных циклов химиотерапии ХЛЛ не отличался от уровня, характерного для контрольной группы (см. рис. 1).

У пациентов с ХМН, получающих на момент обследования препараты интерферона, лейкоцитарный уровень miR-155 не отличался от уровня у пациентов, не получающих интерферон.

Вместе с тем, мы не обнаружили значимой корреляции между уровнем miR-155 и количеством циркулирующих лимфоцитов крови ($r=0,2$, $p>0,05$). Не было

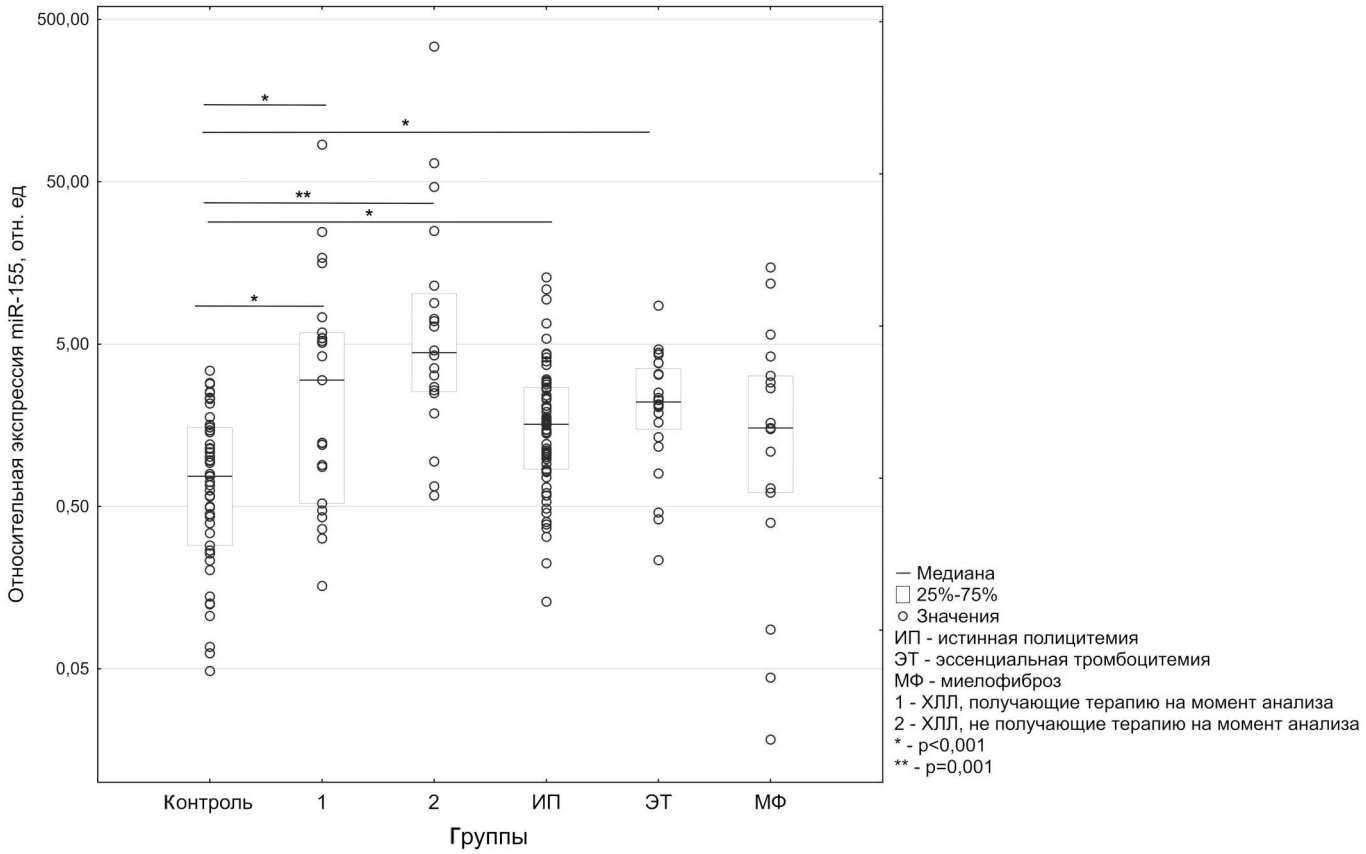


Рис. 1. Относительная экспрессия микроРНК miR-155 у пациентов клинических групп и группы контроля.

обнаружено также какой-либо значимой связи с полом и возрастом обследованных лиц. Не было обнаружено ассоциации уровня лейкоцитарной miR-155 с мутацией JAK2 V617F в группах пациентов с ХМН.

Для определения возможного диагностического потенциала лейкоцитарной miR-155 был проведен ROC-анализ, в результате которого для диагноза ХЛЛ было получено значение AUC=0,85 (95% доверительный интервал (95% ДИ) = 59,7-94,8, p<0,001), диагностическая чувствительность и специфичность теста составили 81,8% и 78,4% соответственно и достигались при пороговом уровне miR-155 равном 1,53 отн. ед. (см. рис. 2,*а*). Для диагностики ХМН значение AUC составило 0,73 (95% ДИ = 45,2-64,8, p<0,001), диагностическая чувствительность и специфичность теста составили 55,1% и 82,4% соответственно и достигались при пороговом уровне miR-155 равном 1,59 отн. ед. (см. рис. 2,*б*). В случае расчета неспецифического диагностического потенциала для хронического клонального заболевания крови (ХЛЛ или ХМН) в сравнении с донорами чувствительность теста определения miR-155 составила 58,9%, специфичность 82,4% (AUC-0,748, 95% ДИ = 67,8-80,9, p<0,001) (см. рис. 2,*в*).

Обсуждение. В условиях нормального кроветворения микроРНК miR-155 участвует в регуляции дифференцировки предшественников миелопоэза, а также соотношения отдельных субтипов Т- и В- лимфоцитов. Повышенный уровень miR-155 обнаружен в активированных Т- и В- клетках и в моноцитах [15]. Кроме того, miR-155 регулирует дифференцировку Т-хелперов, влияя на регуляцию секреции цитокинов Th1/Th2 профиля [16]. Поэтому вполне закономерно что экспрессия микроРНК miR-155 изменяется при злокачественных гематологических опухолях, включая диффузную лимфому Ходжкина, В-крупноклеточную лимфому, фолликулярную лимфому, острый миелоидный лейкоз, острый и хронический лимфобластный лейкозы и миелодиспластический синдром, что делает её перспективным биологическим маркером злокачественных новообразований [17].

В связи с этим, изучаются возможности применения теста на miR-155 в клинической лабораторной диагностике. Показано, что miR-155 экспрессируется как в клетках-предшественниках гемопоэза, так и в зрелых клетках периферической крови (моноцитах, лимфоцитах, гранулоцитах) [18]. В работе H.Bruchova и соавт. [19] была обнаружена сходная экспрессия miR-155 в эритроцитах, лимфоцитах, гранулоцитах и тромбоцитах, в то время как самый высокий её уровень наблюдался в $CD34^+$ клетках.

В табл. 2 показано, что аналитическая вариация miR-155 в лейкоцитах не превышала 26%. Таким образом, сдвиги уровня экспрессии miR-155 в пробах выше этого значения не будет считаться аналитической ошибкой.

В настоящем исследовании не выявлено зависимости уровня экспрессии miR-155 в лейкоцитах периферической крови от пола или возраста, что согласуется с данными, представленными в мета-анализе Lu Tang и соавт.

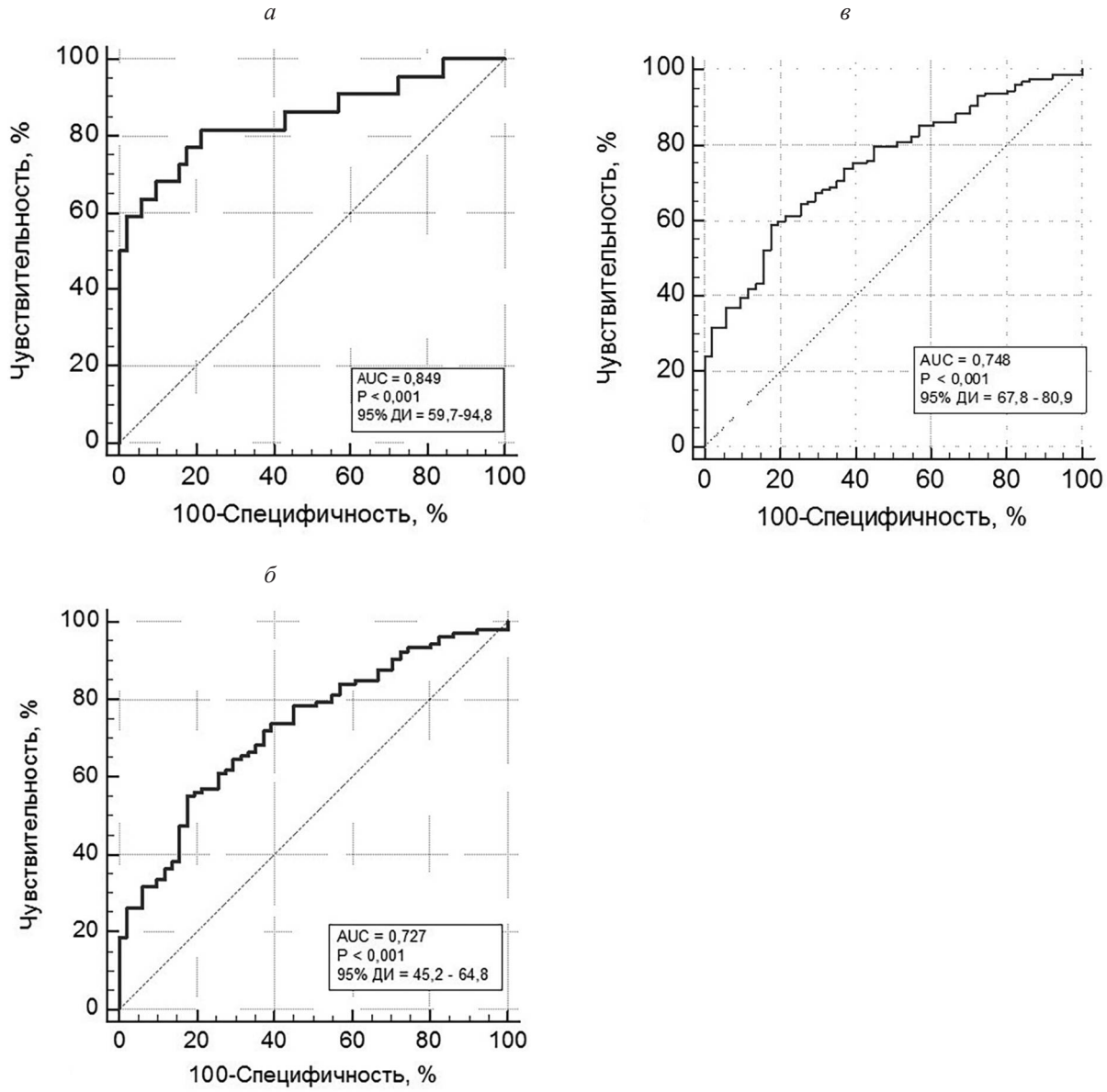


Рис. 2. ROC-кривая, построенная по результатам определения miR-155 в лейкоцитах крови пациентов с ХЛЛ (*а*), ХМН (*б*), объединенной группе ХЛЛ+ХМН (*в*) в сравнении с группой контроля.

[17]. Повышение miR-155 в лейкоцитах крови было обнаружено как у пациентов с ХМН, так и с ХЛЛ, что соответствует данным отдельных работ [11, 17, 20-23]. При этом, наши данные параллельного тестирования проб крови пациентов с ХЛЛ и ХМН на одинаковой аналитической платформе демонстрируют сравнимую тенденцию увеличения уровня лейкоцитарной miR-155 и отсутствие существенных различий между нозологическими группами, что говорит о неспецифическом характере сдвигов данного показателя, отсутствии его непосредственной связи с миелоидным или лимфоидным характером онкотрансформации. Этот факт также подтверждается отсутствием корреляции экспрессии miR-155 с количеством циркулирующих клеток крови как у пациентов в нашем исследовании, так и результатами работы по определению miR-155 у пациентов с ХЛЛ [20].

Известно, что одной из основных мишеней для miR-155 является мРНК опухолевого супрессора *SOCS1* [22]. Было показано участие *SOCS1* в регуляции сигнального пути JAK/STAT при ХМН, а также выявлено ингибирование экспрессии *SOCS1* микроРНК miR-155 в В-лимфоцитах при ХЛЛ [7, 22-23], что позволяет предположить единый механизм вовлеченности miR-155 в патогенез хронических как миело-, так и лимфопролиферативных заболеваний.

Помимо *SOCS1,* miR-155 блокирует синтез протоонкогена *PU.1*- известного регулятора дифференцировки В-лимфоцитов, при этом в одном из исследований показано, что онкоген *MYB* стимулирует экспрессию miR-155 и за счет этого способствует онкогенезу [25].

Показано, что воспаление является одним из основных звеньев патогенеза злокачественных заболеваний

DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-258-264

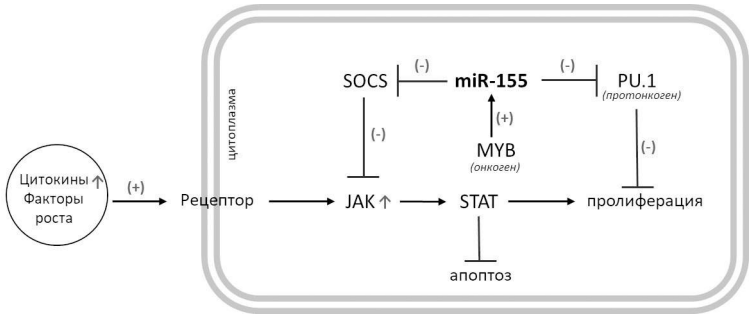


Рис. 3. Предполагаемая схема регуляции miR-155 при лейкомогенезе. Значками (-) и (+) отмечены изменения, характерные для опухолевой клетки.

крови, включая ХМН и лимфопролиферативные опухоли [26-27]. Повышение уровня провоспалительных цитокинов в плазме крови сопряжено с активацией лимфоцитов и повышенной экспрессией miR-155 [5]. Гипотетическая схема, суммирующая проонкогенные механизмы регуляции miR-155 представлена на рис. 3. Активация онкогена *MYB* повышает уровень miR-155, что снижает ингибирующие влияния *SOCS1* и *PU.1* на активность сигнального пути цитокинов JAK-STAT.

В нашей работе было обнаружено, что уровень экспрессии miR-155 в лейкоцитах у пациентов с ХЛЛ на фоне эффективной терапии, практически не отличался от уровня, характерного для группы контроля. Подобное снижение miR-155 на фоне терапии в В-лимфоцитах наблюдалось и в исследовании H.Due и соавт. [5]. В этой же работе показано, что дальнейшее наблюдение за динамикой miR-155 позволяет идентифицировать пациентов высокой группы риска с частыми рецидивами заболевания, которые характеризуются повышением уровня miR-155. Вероятно, первоначальное снижение уровня miR-155 связано с элиминацией опухолевого клона, а последующее повышение её экспрессии в ходе дальнейшей терапии сопряжено с возникновением у части пациентов клонов, устойчивых к химиопрепаратам.

Ранее в эксперименте in vitro было показано участие miR-155 в сигнальном пути, опосредованном интерфероном, на культурах мононуклеаров периферической крови пациентов с гепатитом С и здоровых доноров [28]. Однако в нашем исследовании не было обнаружено отличий между пациентами с ХМН, принимающими и не принимающими интерферон. Такой же результат был получен у пациентов при интерферонотерапии в работе A.Tombak и соавт. [9]. Очевидно, различия обусловлены экспериментальными особенностями постановок *in vitro*.

В нашем исследовании впервые была проведена оценка диагностической значимости определения miR-155 в лейкоцитах крови пациентов с ХЛЛ и ХМН. Выявленные значения чувствительности (81,8%) и специфичности (78,4%) метода позволяют рассматривать miR-155 как потенциальный биомаркер в комплексной диагностике первичного онкогематологического заболевания, а также в качестве неспецифического скринингового теста для выявления новообразований. Ранее чувствительность и специфичность исследования miR-155 в мононуклеарах периферической крови у пациентов с ХЛЛ были оценены в работе S.G.Papageorgiou и соавт. [21], в которой при помощи ROC-анализа было показано что анализ уровня miR-155 может четко разделить пациентов с ХЛЛ и группу контроля (AUC=0,81, 95% ДИ = 0.74–0.88, $p<0.001$). В нашем исследовании впервые продемонстрировано, что определение экспрессии miR-155 в лейкоцитах может дифференцировать пациентов с ХЛЛ и ХМН от группы контроля с чувствительностью 58,9% и специфичностью 82,4%.

Таким образом, в настоящем исследовании была выявлена широкая гетерогенность уровня miR-155 в пробах венозной крови как у доноров, так и у пациентов, а также отсутствие взаимосвязи экспрессии miR-155 в лейкоцитах с полом и возрастом и с количеством онкотрансформированных клеток в периферической крови. Возможность исследования цельной крови и недорогой коммерческий набор реактивов могут способствовать внедрению данного теста в клиническую практику, однако существенным ограничением диагностической значимости теста является широкая межиндивидуальная вариабельность аналита, ограничивающая использования метода только при оценке динамики индивидуальных значений.

Впервые в одном клинико-лабораторном исследовании сравнивались уровни miR-155 в пробах цельной крови пациентов с ХЛЛ и ХМН. Обнаруженное сходное повышение экспрессии miR-155 в лейкоцитах цельной крови у пациентов доказывает вовлеченность исследуемой микроРНК в патогенез этих заболеваний. Использование теста экспрессии miR-155 может быть полезным при первичной диагностике и для оценки эффективности терапии ХЛЛ.

Финансирование. *Настоящее исследование проведено в рамках инициативной темы НИР «Исследование диагностического значения микроРНК miR-155 и ее ассоциации с уровнем мРНК HIF 1a и 2a в клетках крови пациентов при ХЛЛ, ХМЛ и Ph-негативных миелопролиферативных новообразованиях № ГР АААА-А18-118031390161-0».*

Конфликт интересов. *Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1-11, 14-28 см. REFERENCES)

13. Меликян А.Л., Туркина А.Г., Ковригина А.М. и др. Клинические рекомендации по диагностике и терапии Ph-негативных миелопролиферативных заболеваний (истинная полицитемия, эссенциальная тромбоцитемия, первичный миелофиброз). *Гематология и трансфузиология.* 2017; 62 (прил.1):1-60.
14. Клинические рекомендации по обследованию и лечению больных хроническим лимфолейкозом. Савченко В.Г., Под-

дубная И.В., ред., 2014. Доступно по ссылке: https://www.blood.ru/documents/clinical%20guidelines/26.%20klinicheskie-rekomendacii-2014-xll.pdf Дата обращения: 29.01.2020 г.

REFERENCES

1. Saliminejad K., Khorram Khorshid H., Soleymani Fard S., Ghaffari S. An overview of microRNAs: Biology, functions, therapeutics, and analysis methods. *Journal of Cellular Physiology*. 2018;234(5): 5451-65.
2. Roderburg C., Luedde T. Circulating microRNAs as markers of liver inflammation, fibrosis and cancer. *J. Hepatol.* 2014; 61(6): 1434-7.
3. Iftikhar H., Carney GE. Evidence and potential in vivo functions for biofluid miRNAs: From expression profiling to functional testing: Potential roles of extracellular miRNAs as indicators of physiological change and as agents of intercellular information exchange. *Bioessays.* 2016; 38(4): 367-78.
4. Undi R., Kandi R., Gutti R. MicroRNAs as Haematopoiesis Regulators. *Advances in Hematology*. 2013;2013: 1-20.
5. Due H., Svendsen P., Bødker J., Schmitz A., Bøgsted M., Johnsen H.E. et al. miR-155 as a Biomarker in B-Cell Malignancies. *BioMed Research International*. 2016;2016: 1-14.
6. Fatica A., Fazi F. MicroRNA-Regulated Pathways in Hematological Malignancies: How to Avoid Cells Playing Out of Tune. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013;14(10): 20930-3.
7. Costinean S., Zanesi N., Pekarsky Y., Tili E., Volinia S., Heerema N. et al. Pre-B cell proliferation and lymphoblastic leukemia/high-grade lymphoma in E -miR155 transgenic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2006;103(18): 7024-9.
8. O'Connell R., Rao D., Chaudhuri A., Boldin M.P., Taganov K.D., Nicoll J. et al. Sustained expression of microRNA-155 in hematopoietic stem cells causes a myeloproliferative disorder. *The Journal of Cell Biology*. 2008;180(5): i15-i15.
9. Tombak A., Ay O.I., Erdal M.E., Sungur M.A., Ucar M.A., Akdeniz A. et al. MicroRNA Expression Analysis in Patients with Primary Myelofibrosis, Polycythemia vera and Essential Thrombocythemia. Indian J Hematol Blood Transfus. 2015;31(4): 416–25.
10. Visone R., Rassenti L., Veronese A., Taccioli C., Costinean S., Aguda B.D. et al. Karyotype-specific microRNA signature in chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2009;114(18): 3872-9.
11. Rossi S., Shimizu M., Barbarotto E., Nicoloso M.S., Dimitri F., Sampath D. et al. microRNA fingerprinting of CLL patients with chromosome 17p deletion identify a miR-21 score that stratifies early survival. *Blood*. 2010;116(6): 945-52.
12. Melikyan A.L., Turkina A.G., Kovrigina A.M. et al. Clinical recommendations for diagnosis and therapy of Ph-negative myeloproliferative neoplasms (polycythemia vera, essential thrombocythemia, primary myelofibrosis). *Hematologiya i Transfusiologiya*. 2016;62(suppl.1): 1-60. (in Russian)
13. Clinical recommendations for diagnosis and therapy of chronic lymphocytic leukemia [Klinicheskie rekomendatsii po obsledovaniyu I lecheniyu bol´nykh khronicheskim limfoleykozom]. Savchenko V.G., Poddubnaya I.V., eds. 2014. Available at: https://www.blood.ru/documents/clinical%20guidelines/26.%20klinicheskie-rekomendacii-2014-xll.pdf Date of the application: 29.01.2020. (in Russian)
14. Yang L., Wang S., Tang L., Liu B., Ye W.L., Wang L.L. et al. Universal Stem-Loop Primer Method for Screening and Quantification of MicroRNA. *PLoS ONE*. 2014;9(12): e115293.
15. Fabbri M., Croce C., Calin G. MicroRNAs in the ontogeny of leukemias and lymphomas. *Leukemia & Lymphoma.* 2009;50(2):160-70.
16. Thai T., Calado D., Casola S., Ansel K.M., Xiao C., Xue Y. et al. Regulation of the Germinal Center Response by MicroRNA-155. *Science*. 2007;316(5824): 604-8.
17. Tang L., Peng Y., Li C., Jiang H.W., Mei H., Hu Y. Prognostic and Clinicopathological Significance of MiR-155 in Hematologic Malignancies: A Systematic Review and Meta-analysis. *Journal of Cancer*. 2019;10(3): 654-64.
18. Landgraf P., Rusu M., Sheridan R., Sewer A., Iovino N., Aravin A. et al. A Mammalian microRNA Expression Atlas Based on Small RNA Library Sequencing. *Cell*. 2007;129(7):1401-14.
19. Bruchova H., Yoon D., Agarwal A., Mendell J., Prchal J.T. Regulated expression of microRNAs in normal and polycythemia vera erythropoiesis. *Experimental Hematology.* 2007;35(11): 1657-67.
20. Ferrajoli A., Shanafelt T.D., Ivan C., Shimizu M., Rabe K.G., Nouraee N. et al. Prognostic value of miR-155 in individuals with monoclonal B-cell lymphocytosis and patients with B chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2013; 122: 1891-9.
21. Papageorgiou S., Kontos C., Diamantopoulos M., Bouchla A., Glezou E., Bazani E. et al. MicroRNA-155-5p Overexpression in Peripheral Blood Mononuclear Cells of Chronic Lymphocytic Leukemia Patients Is a Novel, Independent Molecular Biomarker of Poor Prognosis. *Disease Markers*. 2017;2017: 1-10.
22. di Iasio M., Norcio A., Melloni E., Zauli G. SOCS1 is significantly up-regulated in Nutlin-3-treated p53 wild-type B chronic lymphocytic leukemia (B-CLL) samples and shows an inverse correlation with miR-155. *Investigational New Drugs*. 2012;30(6): 2403-6.
23. Fulci V., Chiaretti S., Goldoni M., Azzalin G., Carucci N., Tavolaro S. et al. Quantitative technologies establish a novel microRNA profile of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2007;109(11): 4944-51.
24. Zhan H., Cardozo C., Raza A. MicroRNAs in myeloproliferative neoplasms. *British Journal of Haematology*. 2013;161(4): 471-83.
25. Vargova K., Curik N., Burda P., Basova P., Kulvait V., Pospisil V. et al. MYB transcriptionally regulates the miR-155 host gene in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2011;117(14): 3816-25.
26. Mendell J., Olson E. MicroRNAs in Stress Signaling and Human Disease. *Cell*. 2012;148(6): 1172-87.
27. Hermouet S., Bigot-Corbel E., Gardie B. Pathogenesis of Myeloproliferative Neoplasms: Role and Mechanisms of Chronic Inflammation. *Mediators Inflamm.* 2015;2015:145293.
28. El-Ekiaby N., Hamdi N., Negm M., Ahmed R., Zekri A.R., Esmat G. et al. Repressed induction of interferon-related microRNAs miR-146a and miR-155 in peripheral blood mononuclear cells infected with HCV genotype 4. *FEBS Open Bio*. 2012;2(1):179-86.

Поступила 14.01.20
Принята к печати 27.01.20

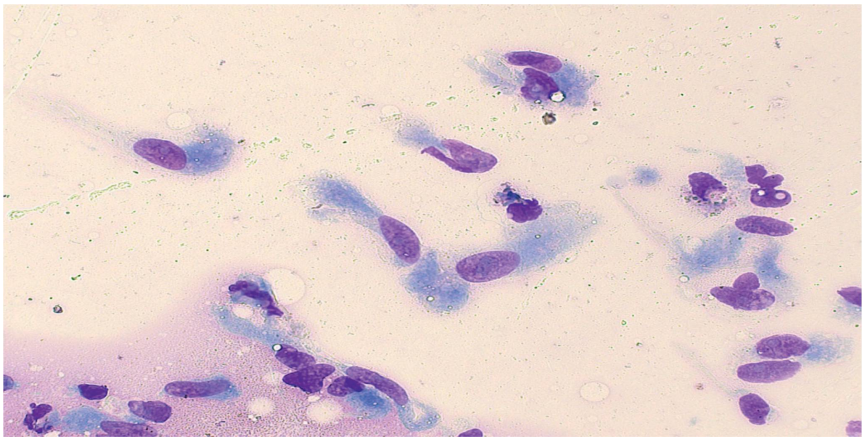


Рис.1. Цитологическое исследование. Среди бесструктурного межуточного вещества расположены клетки вытянутой и овальной формы фибробластического типа. Окраска азур-эозином. Ув.400.

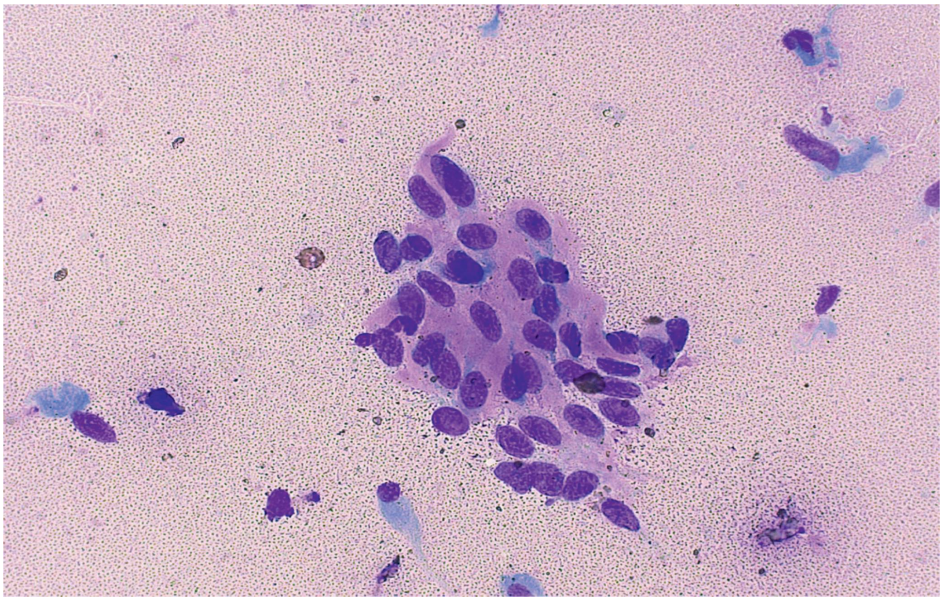


Рис.2. Цитологическое исследование. На фоне плотного фиолетового бесструктурного межуточного вещества расположены клетки вытянутой формы фибробластического типа. Окраска азур-эозином. Ув.400.

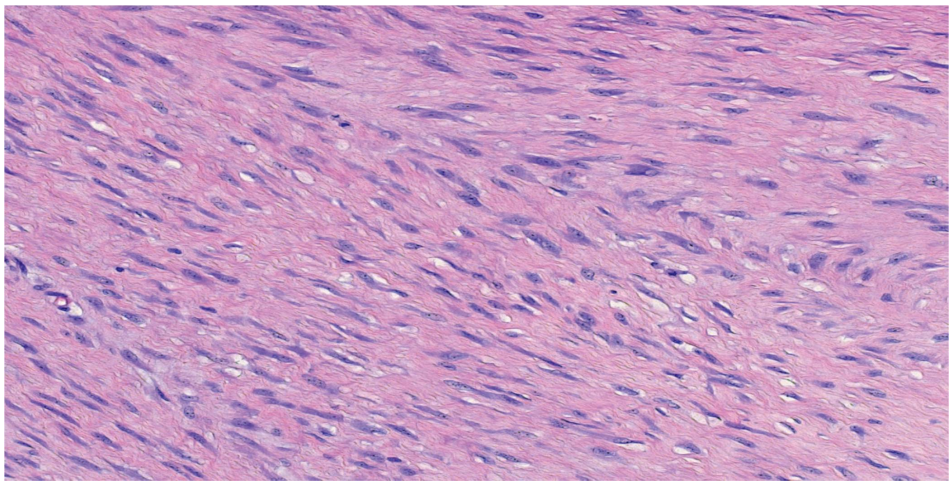


Рис.3. Гистологическое исследование. Грубоволокнистая соединительная ткань с мономорфными равномерно распределенными фибробластоподобными веретеновидными и звездчатыми клетками. Окраска гематоксилин-эозином.Ув.200.

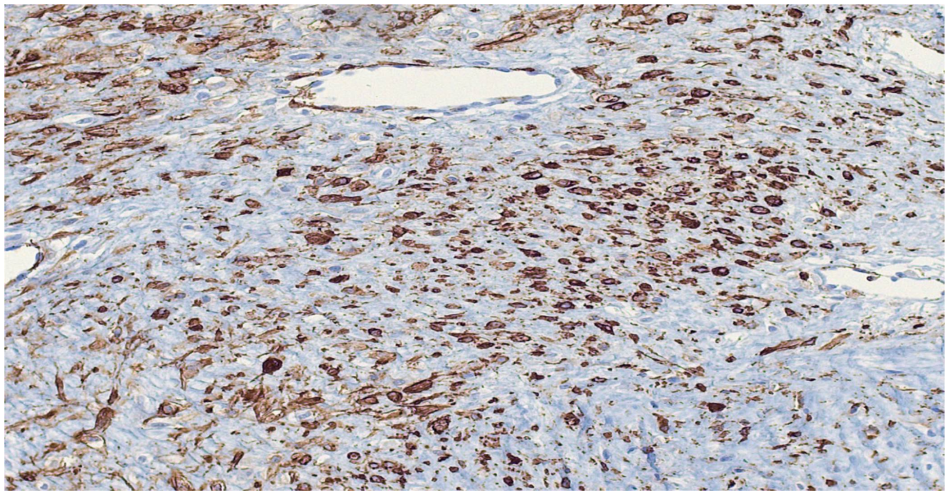


Рис.4. Иммуногистохимическое исследование. Положительная экспрессия мышечного специфического актина (SMA). Ув.100.

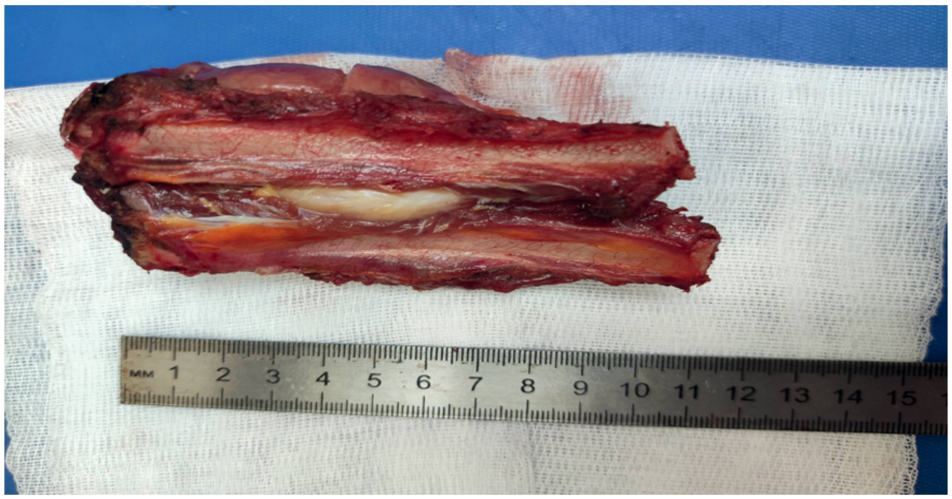


Рис.5 . Опухолевый узел, размерами 3,5х4х3.5см, располагался в толще межреберных мышц.

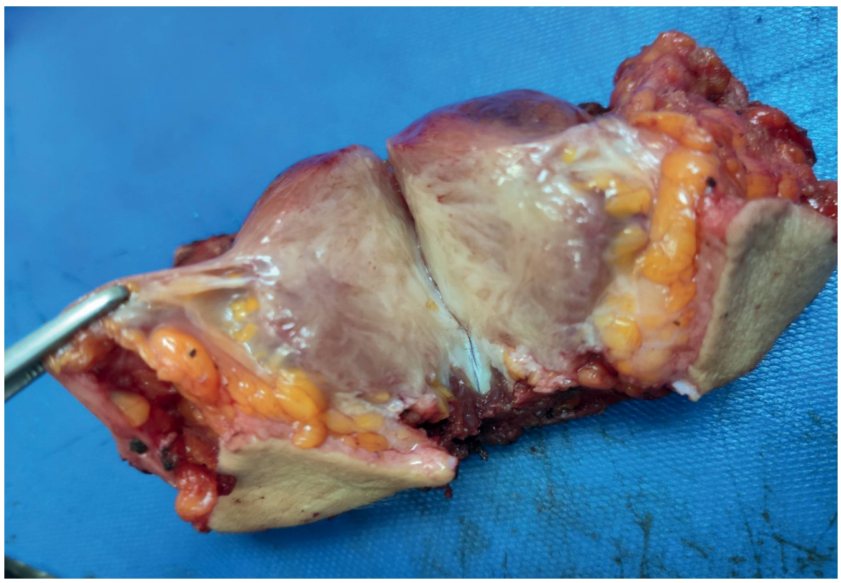


Рис.6 . Плотно-эластичный опухолевый узел, серого цвета, солидного строения, волокнистого вида, размерами 3,5х4х3.5см, располагался в толще межреберных мышц, с врастанием в капсулу эндопротеза и подкожную жировую клетчатку.