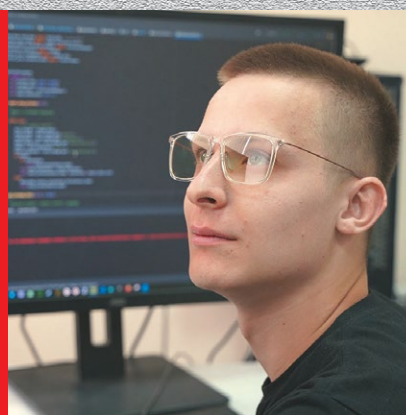


Наука и инновации В МЕДИЦИНЕ

Научно-практический
рецензируемый журнал



Оценка биосовместимости
и остеокондуктивности
гибридного
клеточно-тканевого
трансплантата
для регенеративной
медицины костной ткани



Хирургическое лечение
забрюшинной липосаркомы
с использованием
технологии
эндопротезирования
брюшного отдела аорты
и левой общей
подвздошной артерии



Surgical treatment
of retroperitoneal
liposarcoma using the
technology of endoprosthesis
replacement of the
abdominal aorta and left
common iliac artery
with an endoprosthesis



Evaluation
of biocompatibility
and osteoconductivity
of a hybrid cell-tissue graft
for bone regenerative
medicine





Учредитель и издатель

ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

Зарегистрирован Федеральной службой
по надзору в сфере связи, информационных
технологий и массовых
коммуникаций (Роскомнадзор) 06.06.2016.
Регистрационный № ФС 77-65957

ISSN 2500-1388 (Print)

ISSN 2618-754X (Online)

Периодичность: 4 номера в год.

Журнал включен в Перечень ведущих
научных журналов и изданий ВАК (К2)

Индексация

DOAJ

Российский Индекс Научного Цитирования

(eLibrary.ru)

Cyberleninka

Google Scholar

Ulrich's Periodicals Directory

Dimensions

Crossref

Архив номеров: www.innoscience.ru

Открытый доступ к архивам

и текущим номерам.

Прием статей в журнал:

<https://innoscience.ru/2500-1388/author/submit/1>

Правила публикации авторских материалов:

<https://innoscience.ru/2500-1388/about/submissions>

Адрес издателя и редакции:

ул. Чапаевская, 89, г. Самара, Россия, 443099.

Тел.: + 7 (846) 374 10 04.

E-mail: edition@innoscience.ru

Зав. редакцией: Стефанская А.В.

(e-mail: a.v.stefanskaya@samsmu.ru)

Переводчик: Калинин К.М.

Корректор: Чайникова И.Н.

Верстка: Овчинникова Т.И.

Подписано в печать: 05.12.2024

Выход в свет 20.12.2024

Отпечатано: ООО «Прайм».

Байкальский пер., 12, г. Самара,

Россия, 443079.

Тел.: +7 (846) 922 62 90.

Формат 60 × 90%. Печать офсетная.

Заказ №1012.

Усл. печ. л. 9.

Тираж 250 экз.

Это контент открытого доступа,
распространяемый по лицензии Creative
Commons Attribution License, которая
разрешает неограниченное использование,
распространение и воспроизведение на любом
носителе при условии правильного цитирования
оригинальной работы. (CC BY 4.0)



© Авторский коллектив; Самарский
государственный медицинский университет
(составление, дизайн, макет)

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Колсанов А.В., профессор РАН, д.м.н., профессор (Самара, Россия)

ORCID: [0000-0002-4144-7090](https://orcid.org/0000-0002-4144-7090)

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Котельников Г.П., академик РАН, д.м.н., профессор (Самара, Россия)

ORCID: [0000-0001-7456-6160](https://orcid.org/0000-0001-7456-6160)

Давыдкин И.Л., д.м.н., профессор (Самара, Россия)

ORCID: [0000-0002-4318-4247](https://orcid.org/0000-0002-4318-4247)

НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР

Рубаненко О.А., д.м.н., доцент (Самара, Россия)

ORCID: [0000-0001-9351-6177](https://orcid.org/0000-0001-9351-6177)

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

Бабанов С.А., д.м.н., профессор (Самара, Россия)

ORCID: [0000-0002-1667-737X](https://orcid.org/0000-0002-1667-737X)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Агранович Н.М., д.м.н.,
профессор (Ставрополь, Россия)

ORCID: [0000-0002-3717-7091](https://orcid.org/0000-0002-3717-7091)

Байриков И.М., член-корр. РАН, д.м.н.,
профессор (Самара, Россия)

ORCID: [0009-0005-1170-8180](https://orcid.org/0009-0005-1170-8180)

Белов Ю.В., акад. РАН, д.м.н.,
профессор (Москва, Россия)

ORCID: [0000-0002-9280-8845](https://orcid.org/0000-0002-9280-8845)

Vico L., доктор медицины,
профессор (Сент-Этьен, Франция)

ORCID: [0000-0002-2110-287X](https://orcid.org/0000-0002-2110-287X)

Винников Д.В., д.м.н.
(Алматы, Республика Казахстан)

ORCID: [0000-0003-0991-6237](https://orcid.org/0000-0003-0991-6237)

Волова Л.Т., д.м.н., профессор
(Самара, Россия)

ORCID: [0000-0002-8510-3118](https://orcid.org/0000-0002-8510-3118)

Galati G., доктор медицины
(Милан, Италия)

ORCID: [0000-0002-8001-1249](https://orcid.org/0000-0002-8001-1249)

Gonda X., доктор медицины
(Будапешт, Венгрия)

ORCID: [0000-0001-9015-4203](https://orcid.org/0000-0001-9015-4203)

De Berardis D., доктор медицины,
профессор (Терамо, Италия)

ORCID: [0000-0003-4415-5058](https://orcid.org/0000-0003-4415-5058)

De Sousa A., доктор медицины,
профессор (Мумбаи, Индия)

ORCID: [0000-0001-8466-5648](https://orcid.org/0000-0001-8466-5648)

Дупляков Д.В., д.м.н., профессор
(Самара, Россия)

ORCID: [0000-0002-6453-2976](https://orcid.org/0000-0002-6453-2976)

Золотовская И.А., д.м.н.,

доцент (Самара, Россия)

ORCID: [0009-0006-8541-9100](https://orcid.org/0009-0006-8541-9100)

Каганов О.И., д.м.н., профессор
(Самара, Россия)

ORCID: [0000-0002-4569-1031](https://orcid.org/0000-0002-4569-1031)

Summing P., доктор медицины,
профессор (Берн, Швейцария)

ORCID: [0000-0002-0257-9621](https://orcid.org/0000-0002-0257-9621)

Каплан А.Я., д.биол.н., профессор
(Калининград, Россия)

ORCID: [0000-0002-3912-4639](https://orcid.org/0000-0002-3912-4639)

Kirk O., доктор медицины, профессор
(Копенгаген, Дания)

ORCID: [0000-0003-1995-1837](https://orcid.org/0000-0003-1995-1837)

Киселев А.Р., д.м.н., профессор
(Саратов, Россия)

ORCID: [0000-0003-3967-3950](https://orcid.org/0000-0003-3967-3950)

Козлов С.В., д.м.н., профессор
(Самара, Россия)

ORCID: [0000-0002-5480-961X](https://orcid.org/0000-0002-5480-961X)

Котовская Ю.В., д.м.н., профессор
(Москва, Россия)

ORCID: [0000-0002-1628-5093](https://orcid.org/0000-0002-1628-5093)

Куркин В.А., д.фарм.н., профессор
(Самара, Россия)

ORCID: [0000-0002-7513-9352](https://orcid.org/0000-0002-7513-9352)

Лебедев М.А., профессор
(Москва, Россия)

ORCID: [0000-0003-0355-8723](https://orcid.org/0000-0003-0355-8723)

Lichtenberg A., доктор медицины,
профессор (Дюссельдорф, Германия)

ORCID: [0000-0001-8580-6369](https://orcid.org/0000-0001-8580-6369)

Маслякова Г.Н., д.м.н., профессор
(Саратов, Россия)

ORCID: [0000-0001-8834-1536](https://orcid.org/0000-0001-8834-1536)

Момот А.П., д.м.н., профессор
(Барнаул, Россия)

ORCID: [0000-0002-8413-5484](https://orcid.org/0000-0002-8413-5484)

Норкин И.А., д.м.н., профессор
(Саратов, Россия)

ORCID: [0000-0002-6770-3398](https://orcid.org/0000-0002-6770-3398)

Повереннова И.Е., д.м.н., профессор
(Самара, Россия)

ORCID: [0000-0002-2594-461X](https://orcid.org/0000-0002-2594-461X)

Подлекарева Д.Н., доктор медицины
(Копенгаген, Дания)

ORCID: [0000-0003-3187-0597](https://orcid.org/0000-0003-3187-0597)

Поспелова Т.И., д.м.н., профессор
(Новосибирск, Россия)

ORCID: [0000-0002-1261-5470](https://orcid.org/0000-0002-1261-5470)

Рубникович С.П., член-корр.

Национальной академии наук Беларуси,

д.м.н., профессор (Минск, Беларусь)

ORCID: [0009-0000-7353-2233](https://orcid.org/0009-0000-7353-2233)

Рыбцов С.А., канд.биол.наук

(Краснодарский край, Россия)

ORCID: [0000-0001-7786-1878](https://orcid.org/0000-0001-7786-1878)

Салогуб Г.Н., д.м.н., профессор

(Санкт-Петербург, Россия)

ORCID: [0000-0001-8951-1680](https://orcid.org/0000-0001-8951-1680)

Сафуанова Г.Ш., д.м.н., профессор
(Уфа, Россия)

ORCID: [0000-0003-2627-0626](https://orcid.org/0000-0003-2627-0626)

Stefanidis A., доктор медицины,

профессор (Пирей, Греция)

ORCID: [0000-0001-5814-1859](https://orcid.org/0000-0001-5814-1859)

Ткачева О.Н., д.м.н., профессор

(Москва, Россия)

ORCID: [0000-0001-5451-2915](https://orcid.org/0000-0001-5451-2915)

Fountoulakis K., доктор медицины,

профессор (Салоники, Греция)

ORCID: [0000-0001-5503-0811](https://orcid.org/0000-0001-5503-0811)

Founder and Publisher

Samara State Medical University

Registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media (Roskomnadzor) 06.06.2016.
Registration number FS 77-65957

ISSN 2500-1388 (Print)

ISSN 2618-754X (Online)

Publication frequency: quarterly.

Indexation

DOAJ
Russian Science Citation Index (eLibrary.ru)
Cyberleninka
Google Scholar
Ulrich's Periodicals Directory
Dimensions
Crossref

Journal archive:

www.innoscience.ru

Archive and current issues are in open access.

Articles submission:

<https://innoscience.ru/2500-1388/author/submit/1>

Author Guidelines:

<https://innoscience.ru/2500-1388/about/submissions>

Publisher and editorial

office address:

89 Chapaevskaya st., Samara, Russia, 443099.
Tel.: + 7 (846) 374 10 04.
E-mail: edition@innoscience.ru

Executive editor: Alla V. Stefanskaya

(e-mail: a.v.stefanskaya@samsmu.ru)

Translator: Konstantin M. Kalinin

Proofreader: Inna N. Chainikova

Layout editor: Tat'yana I. Ovchinnikova

Signed for printing: 05.12.2024

Publication 20.12.2024

Printed by: LLC "Prime"

12 Baikalsky lane,
Samara, Russia, 443079.

Tel.: +7 (846) 922 62 90.

Order: No1012

 This is an open access content distributed under the Creative Commons Attribution License which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. ([CC BY 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/))

© Authors; Samara State Medical University
(Compilation, Design, and Layout)

EDITOR-IN-CHIEF

Aleksandr V. Kolsanov, Professor of the Russian Academy of Sciences,
MD, Dr. Sci. (Med.), Professor (Samara, Russia)
ORCID: [0000-0002-4144-7090](https://orcid.org/0000-0002-4144-7090)

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF

Gennadii P. Kotelnikov, Academician of the Russian Academy of Sciences,
MD, Dr. Sci. (Med.), Professor (Samara, Russia)
ORCID: [0000-0001-7456-6160](https://orcid.org/0000-0001-7456-6160)

Igor L. Davydkin, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor (Samara, Russia)
ORCID: [0000-0002-4318-4247](https://orcid.org/0000-0002-4318-4247)

SCIENCE EDITOR

Olesya A. Rubanenko, MD, Dr. Sci. (Med.), Associate Professor (Samara, Russia)
ORCID: [0000-0001-9351-6177](https://orcid.org/0000-0001-9351-6177)

RESPONSIBLE SECRETARY

Sergei A. Babanov, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor (Samara, Russia)
ORCID: [0000-0002-1667-737X](https://orcid.org/0000-0002-1667-737X)

EDITORIAL BOARD

Nadezhda V. Agranovich, MD, Dr. Sci. (Med.),
Professor (Stavropol, Russia)
ORCID: [0000-0002-3717-7091](https://orcid.org/0000-0002-3717-7091)

Ivan M. Bairikov, Corresp. member of the
Russian Academy of Sciences, MD, Dr. Sci.
(Med.), Professor (Samara, Russia)
ORCID: [0009-0005-1170-8180](https://orcid.org/0009-0005-1170-8180)

Yurii V. Belov, Academician of the Russian
Academy of Sciences, MD, Dr. Sci. (Med.),
Professor (Moscow, Russia)
ORCID: [0000-0002-9280-8845](https://orcid.org/0000-0002-9280-8845)

Laurence Vico, MD, Professor
(Saint-Étienne, France)
ORCID: [0000-0002-2110-287X](https://orcid.org/0000-0002-2110-287X)

Denis V. Vinnikov, Dr. Sci. (Med.)
(Almaty, Kazakhstan)
ORCID: [0000-0003-0991-6237](https://orcid.org/0000-0003-0991-6237)

Larisa T. Volova, MD, Dr. Sci. (Med.),
Professor (Samara, Russia)
ORCID: [0000-0002-8510-3118](https://orcid.org/0000-0002-8510-3118)

Giuseppe Galati, MD (Milan, Italy)
ORCID: [0000-0002-8001-1249](https://orcid.org/0000-0002-8001-1249)

Xenia Gonda, MD, Professor
(Budapest, Hungary)
ORCID: [0000-0001-9015-4203](https://orcid.org/0000-0001-9015-4203)

Domenico De Berardis, MD, Professor
(Teramo, Italy)
ORCID: [0000-0003-4415-5058](https://orcid.org/0000-0003-4415-5058)

Avinash De Sousa, MD, Professor
(Mumbai, India)
ORCID: [0000-0001-8466-5648](https://orcid.org/0000-0001-8466-5648)

Dmitrii V. Duplyakov, MD, Dr. Sci. (Med.),
Professor (Samara, Russia)
ORCID: [0000-0002-6453-2976](https://orcid.org/0000-0002-6453-2976)

Irina A. Zolotovskaya, MD, Dr. Sci. (Med.),
Associate Professor (Samara, Russia)
ORCID: [0009-0006-8541-9100](https://orcid.org/0009-0006-8541-9100)

Oleg I. Kaganov, MD, Dr. Sci. (Med.),
Professor (Samara, Russia)
ORCID: [0000-0002-4569-1031](https://orcid.org/0000-0002-4569-1031)

Paul Cumming, MD, Professor
(Bern, Switzerland)
ORCID: [0000-0002-0257-9621](https://orcid.org/0000-0002-0257-9621)

Aleksandr Ya. Kaplan, Dr. Sci. (Bio.),
Professor (Kaliningrad, Russia)
ORCID: [0000-0002-3912-4639](https://orcid.org/0000-0002-3912-4639)

Ole Kirk, MD, Professor
(Copenhagen, Denmark)
ORCID: [0000-0003-1995-1837](https://orcid.org/0000-0003-1995-1837)

Anton R. Kiselev, MD, Dr. Sci. (Med.),
Professor (Saratov, Russia)
ORCID: [0000-0003-3967-3950](https://orcid.org/0000-0003-3967-3950)

Sergei V. Kozlov, MD, Dr. Sci. (Med.),
Professor (Samara, Russia)
ORCID: [0000-0002-5480-961X](https://orcid.org/0000-0002-5480-961X)

Yuliya V. Kotovskaya, MD, Dr. Sci. (Med.),
Professor (Moscow, Russia)

ORCID: [0000-0002-1628-5093](https://orcid.org/0000-0002-1628-5093)

Vladimir A. Kurkin, Dr. Sci. (Pharm.),
Professor (Samara, Russia)
ORCID: [0000-0002-7513-9352](https://orcid.org/0000-0002-7513-9352)

Mikhail A. Lebedev, PhD, Professor
(Moscow, Russia)
ORCID: [0000-0003-0355-8723](https://orcid.org/0000-0003-0355-8723)

Artur Lichtenberg, MD, PhD, Professor
(Dusseldorf, Germany)
ORCID: [0000-0001-8580-6369](https://orcid.org/0000-0001-8580-6369)

Galina N. Maslyakova, MD, Dr. Sci. (Med.),
Professor (Saratov, Russia)
ORCID: [0000-0001-8834-1536](https://orcid.org/0000-0001-8834-1536)

Andrei P. Momot, MD, Dr. Sci. (Med.),
Professor (Barnaul, Russia)
ORCID: [0000-0002-8413-5484](https://orcid.org/0000-0002-8413-5484)

Igor A. Norkin, MD, Dr. Sci. (Med.),
Professor (Saratov, Russia)
ORCID: [0000-0002-6770-3398](https://orcid.org/0000-0002-6770-3398)

Irina E. Poverennova, MD, Dr. Sci. (Med.),
Professor (Samara, Russia)
ORCID: [0000-0002-2594-461X](https://orcid.org/0000-0002-2594-461X)

Darya N. Podlekareva, MD, PhD,
Professor (Copenhagen, Denmark)
ORCID: [0000-0003-3187-0597](https://orcid.org/0000-0003-3187-0597)

Tatyana I. Pospelova, MD, Dr. Sci. (Med.),
Professor (Novosibirsk, Russia)
ORCID: [0000-0002-1261-5470](https://orcid.org/0000-0002-1261-5470)

Sergey P. Rubnikovich, Corresp. member
of the National Academy of Sciences of Belarus,
MD, Dr. Sci. (Med.) (Minsk, Belarus)
ORCID: [0009-0000-7353-2233](https://orcid.org/0009-0000-7353-2233)

Stanislav A. Rybtsov, Cand. Sci. (Bio.)
(Krasnodar region, Russia)
ORCID: [0000-0001-7786-1878](https://orcid.org/0000-0001-7786-1878)

Galina N. Salogub, MD, Dr. Sci. (Med.),
Associate Professor (Saint Petersburg, Russia)
ORCID: [0000-0001-8951-1680](https://orcid.org/0000-0001-8951-1680)

Guzyal S. Safuanova, MD, Dr. Sci. (Med.),
Professor (Ufa, Russia)
ORCID: [0000-0003-2627-0626](https://orcid.org/0000-0003-2627-0626)

Alexandros Stefanidis, MD, Professor
(Piraeus, Greece)
ORCID: [0000-0001-5814-1859](https://orcid.org/0000-0001-5814-1859)

Olga N. Tkacheva, MD, Dr. Sci. (Med.),
Professor (Moscow, Russia)
ORCID: [0000-0001-5451-2915](https://orcid.org/0000-0001-5451-2915)

Konstantinos Fountoulakis, MD,
Professor (Thessaloniki, Greece)
ORCID: [0000-0001-5503-0811](https://orcid.org/0000-0001-5503-0811)

СОДЕРЖАНИЕ / CONTENTS

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ	246	OBSTETRICS AND GYNECOLOGY
А.В. Колсанова, С.М. Чечко, Е.Ф. Кира, А.Р. Шамшатдинова Цервикальный скрининг и искусственный интеллект	246	Anna V. Kolsanova, Svetlana M. Chechko, Evgenii F. Kira, Aliya R. Shamshatdinova Cervical screening and artificial intelligence
АНАТОМИЯ ЧЕЛОВЕКА	251	HUMAN ANATOMY
Ю.О. Жариков, И.А. Волошин, Р.В. Масленников, А.Н. Гаджихамедова, Т.С. Жарикова, В.Н. Николенко Взаимосвязь портальной гипертензии и соматической конституции: обоснование концепции	251	Yurii O. Zharikov, Ilya A. Voloshin, Roman V. Maslennikov, Aida N. Gadzhiakhmedova, Tatyana S. Zharikova, Vladimir N. Nikolenko Correlation between portal hypertension and somatic constitution: rationale behind the concept
БИОТЕХНОЛОГИЯ	256	BIOTECHNOLOGY
Н.Н. Данилкович, С.М. Космачева, А.Г. Ионова, К.А. Криворот, А.Н. Мазуренко, Д.Г. Алексеев Оценка биосовместимости и остеокондуктивности гибридного клеточно-тканевого трансплантата для регенеративной медицины костной ткани	256	Nataliya N. Danilkovich, Svetlana M. Kosmacheva, Aleksandra G. Ionova, Kirill A. Krivorot, Andrei N. Mazurenka, Denis G. Alekseev Evaluation of biocompatibility and osteoconductivity of a hybrid cell-tissue graft for bone regenerative medicine
ГЕРОНТОЛОГИЯ И ГЕРИАТРИЯ	268	GERONTOLOGY AND GERIATRICS
Н.М. Агарков, Н.В. Попова Изменения качества жизни при социальной изоляции у пожилых пациентов с нарушением зрения	268	Nikolai M. Agarkov, Natalya V. Popova Changes in quality of life during social isolation in elderly patients with visual impairment
ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ	272	INFECTIOUS DISEASES
Я.А. Сафронова, М.А. Чаркина, А.С. Паньков Клинико-иммунологическая характеристика COVID-19 у пациентов в динамике заболевания	272	Yana A. Safronova, Mariya A. Charkina, Aleksandr S. Pankov Clinical and immunological characteristics of COVID-19 in patients with disease dynamics
Е.И. Темник, Д.Ю. Константинов, Л.Л. Попова Особенности цитокинового профиля у больных новой коронавирусной инфекцией на фоне хронического гепатита С	278	Elizaveta I. Temnik, Dmitrii Yu. Konstantinov, Larisa L. Popova Characteristics of the cytokine profile in patients with a new coronavirus infection with chronic hepatitis C
МЕДИЦИНСКАЯ ИНФОРМАТИКА	284	MEDICAL INFORMATICS
А.В. Захаров, И.В. Широлапов, Е.В. Хивинцева, М.С. Сергеева, Н.П. Романчук, Д.А. Дедык, Д.Д. Мельникова, А.М. Андреев, А.И. Мавлетова, А.О. Щепетов, Jude Hemanth Автоматическая сегментация очагов демиелинизации при рассеянном склерозе	284	Aleksandr V. Zakharov, Igor V. Shirolapov, Elena V. Khivintseva, Mariya S. Sergeeva, Natalya P. Romanchuk, Dmitrii A. Dedyk, Darya D. Melnikova, Arsenii M. Andreev, Aleksandra I. Mavletova, Anton O. Shchepetov, Jude Hemanth Automatic segmentation of demyelination lesions in multiple sclerosis
НЕВРОЛОГИЯ	291	NEUROLOGY
А.В. Якунина, А.А. Усольцева, В.А. Калинин, И.Е. Повереннова, Ю.В. Мякишева Роль однонуклеотидных вариантов генов фолатного цикла матери с эпилепсией в формировании врожденных пороков развития плода	291	Albina V. Yakunina, Anna A. Usoltseva, Vladimir A. Kalinin, Irina E. Poverennova, Yuliya V. Myakisheva The role of single nucleotide variants of folate cycle genes of a mother with epilepsy in the occurrence of congenital malformations of the fetus
ОНКОЛОГИЯ, ЛУЧЕВАЯ ТЕРАПИЯ	297	ONCOLOGY, RADIATION THERAPY
И.С. Стилиди, М.Г. Абгарян, А.Е. Калинин, Л.Р. Шулумба, О.А. Егенов Хирургическое лечение забрюшинной липосаркомы с использованием технологии эндопротезирования брюшного отдела аорты и левой общей подвздошной артерии	297	Ivan S. Stilidi, Mikael G. Abgaryan, Aleksei E. Kalinin, Lola R. Shulumba, Omar A. Egenov Surgical treatment of retroperitoneal liposarcoma using the technology of endoprosthetic replacement of the abdominal aorta and left common iliac artery with an endoprosthesis
ОТОРИНОЛАРИНГОЛОГИЯ	303	OTORHINOLARYNGOLOGY
Р.А. Ларин, А.С. Гришин, П.П. Мокеева Некоторые патоморфологические особенности изолированного сфеноидита	303	Roman A. Larin, Artem S. Grishin, Polina P. Mokeeva Certain pathomorphological features of isolated sphenoiditis
ТРАВМАТОЛОГИЯ И ОРТОПЕДИЯ	311	TRAUMATOLOGY AND ORTHOPEDICS
А.В. Розов, А.М. Лила, Е.И. Бялик, Е.А. Нарышкин, С.В. Маглеваний, А.И. Горелова Результаты сухожильных трансферов для стабилизации суставов запястья у пациентов с ревматоидным артритом	311	Aleksandr V. Rozov, Aleksandr M. Lila, Evgenii I. Byalik, Evgenii A. Naryshkin, Sergei V. Maglevany, Anastasiya I. Gorelova Results of tendon transfers for stabilization of wrist joints for patients with rheumatoid arthritis
ФАРМАКОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ	317	PHARMACOLOGY
Д.И. Поздняков Влияние производного коричной кислоты на активность митохондриальных ферментов в мозговой ткани в условиях экспериментальной болезни Паркинсона	317	Dmitrii I. Pozdnyakov The effect of cinnamic acid derivative on the activity of mitochondrial enzymes in brain tissue under conditions of experimental Parkinson's disease

Цервикальный скрининг и искусственный интеллект

А.В. Колсанова¹, С.М. Чечко¹, Е.Ф. Кира², А.Р. Шамшатдинова¹

¹ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России
(Самара, Российская Федерация)

²АО ГК «МЕДСИ», Медицинская академия (Москва, Российская Федерация)

Аннотация

Применение искусственного интеллекта в гинекологии находится в настоящее время на начальном этапе. На основе искусственного интеллекта уже созданы программы для чтения цитологических изображений, идентификации вируса папилломы человека и кольпоскопии, что повышает доступность визуального скрининга для женщин, в том числе проживающих в отдаленных районах. Применение систем искусственного интеллекта для цервикального скрининга способствует улучшению своевременной диагностики рака шейки матки.

В обзоре представлены результаты зарубежных и отечественных научных работ, посвященных технологиям использования искусственного интеллекта для выполнения цитологического исследования и кольпоскопии. Поиск источников литературы, опубликованных в период с 2019 по 2024 год, проводился на платформе PubMed. Поисковые запросы включали следующие ключевые слова: "cervical screening", "artificial intelligence in gynecology", "artificial intelligence in colposcopy", "artificial intelligence in cervical screening".

Установлено, что программы искусственного интеллекта для интерпретации мазка по Папаниколау (AI-Pap) на 5,8% более чувствительны к обнаружению CIN2+, чем ручной подсчет, с небольшим снижением специфичности.

В исследованиях на основе обработки искусственным интеллектом кольпоскопических картин процент совпадения результатов и гистологическим заключением был выше, чем при интерпретации врачами-специалистами, на 16,64 %. При идентификации HSIL+ искусственным интеллектом выявлена более высокая чувствительность, на 11,5% превышающая заключение кольпоскописта, в то время как специфичность была практически сопоставима. Кроме того, программы на основе ИИ оказались более точными в прогнозировании мест проведения биопсии.

Ключевые слова: искусственный интеллект, цервикальный скрининг, цифровая кольпоскопия.

Конфликт интересов: не заявлен.

Для цитирования:

Колсанова А.В., Чечко С.М., Кира Е.Ф., Шамшатдинова А.Р.

Цервикальный скрининг и искусственный интеллект.

Наука и инновации в медицине. 2024;9(4):246-250.

DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM640828>

Сведения об авторах

Колсанова А.В. – д-р мед. наук, доцент, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии института педиатрии.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9483-8909>

E-mail: a.v.kazakova@samsmu.ru

Чечко С.М. – ассистент кафедры акушерства и гинекологии института педиатрии.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3890-9944>

E-mail: s.m.chechko@samsmu.ru

Кира Е.Ф. – д-р мед. наук, профессор, академик РАЕН, советник медицинского директора.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1376-7361>

E-mail: profk33@gmail.com

Шамшатдинова А.Р. – ординатор 1 года обучения кафедры акушерства и гинекологии ИПО, старший лаборант кафедры акушерства и гинекологии института педиатрии.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-5765-2361>

E-mail: a.r.shamshatdinova@samsmu.ru

Автор для переписки

Чечко Светлана Михайловна

Адрес: Самарский государственный медицинский университет, ул. Чапаевская, 89, г. Самара, Россия, 443099.

E-mail: s.m.chechko@samsmu.ru

Список сокращений

ИИ – искусственный интеллект, РШМ – рак шейки матки, HSIL – high grade squamous intraepithelial lesions, CIN – Cervical Intraepithelial Neoplasia, ML – Machine Learning, DL – Deep Learning, ВПЧ (HPV) – вирус папилломы человека, human papillomavirus, CAIADS – Colposcopic Artificial Intelligence Auxiliary Diagnostic System.

Получено: 03.11.2024

Одобрено: 23.11.2024

Опубликовано: 02.12.2024

Cervical screening and artificial intelligence

Anna V. Kolsanova¹, Svetlana M. Chechko¹, Evgenii F. Kira², Aliya R. Shamshatdinova¹

¹Samara State Medical University (Samara, Russian Federation)

²MEDSI Group of Companies, Medical Academy (Moscow, Russian Federation)

Abstract

Currently, the use of artificial intelligence (AI) in gynecology is at the initial stage of its implementation. However, despite the relatively short period of using the latest technologies, AI-based systems are gaining momentum, becoming a powerful tool in analysis, diagnosis, and clinical visualization in the practical work of obstetricians and gynecologists around the world. AI-based programs for reading cytological images, human papilloma virus (HPV) identification and colposcopy have been created to date, which makes it possible to increase the availability of visual screening for women.

The review presents the main categories of AI, including machine learning methods, and includes foreign and domestic research on AI-based technologies for performing cytological examination and colposcopy, published between 2019 and 2024. The search for literature sources was performed on the PubMed platform. The search queries included the following keywords: "cervical

screening", "artificial intelligence in gynecology", "artificial intelligence in colposcopy", "artificial intelligence in cervical screening".

It was found that AI programs for the interpretation of Pap smear (AI-Pap) are 5.8% more sensitive to the detection of CIN2+ than manual counting with a slight decrease in specificity.

In studies based on AI processing of colposcopic images, the percentage of coincidence between the results and the histological conclusion was higher than when interpreted by specialist doctors by 16.64%. When identifying HSIL+ with artificial intelligence, a higher sensitivity was revealed, 11.5% higher than the conclusion of the colposcopist, while the specificity was practically comparable. In addition, AI-based programs have proven to be more accurate in predicting biopsy sites.

Keywords: artificial intelligence, digital colposcopy, cervical screening.

Conflict of Interest: nothing to disclose.

Citation

Kolsanova AV, Chechko SM, Kira EF, Shamshatdinova AR. **Cervical screening and artificial intelligence.** *Science and Innovations in Medicine.* 2024;9(4):246-250. DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM640828>

Information about authors

Anna V. Kolsanova – PhD, Associate professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology of the Institute of Pediatrics.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9483-8909>

E-mail: a.v.kazakova@samsmu.ru

Svetlana M. Chechko – assistant of the Department of Obstetrics and Gynecology at the Institute of Pediatrics.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3890-9944>

E-mail: s.m.chechko@samsmu.ru

Evgenii F. Kira – PhD, Professor, Academician of the Russian Academy of Natural Sciences, Advisor to the Medical Director.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1376-7361>

E-mail: profkira33@gmail.com

Aliya R. Shamshatdinova – 1-year resident of the Department of Obstetrics and Gynecology of the IPE, senior laboratory assistant of the Department of Obstetrics and Gynecology of the Institute of Pediatrics.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-5765-2361>

E-mail: a.r.shamshatdinova@samsmu.ru

Corresponding author

Svetlana M. Chechko

Address: Samara State Medical University, 89 Chapayevskaya st., Samara, Russia, 443099.

E-mail: s.m.chechko@samsmu.ru

Received: 03.11.2024

Accepted: 23.11.2024

Published: 02.12.2024

■ АКТУАЛЬНОСТЬ

В последние годы количество разработок в области технологий искусственного интеллекта (ИИ) значительно выросло [1]. Нет такой сферы жизни человека, куда бы он не проник. В медицине ИИ применяется практически в каждой специальности: для диагностики и лечения заболеваний, анализа рисков, выполнения хирургических операций, разработки лекарств, в скрининге, статистике [2, 3]. Мир сталкивается с постоянно растущими требованиями к предоставлению более качественного глобального здравоохранения, система которого борется с увеличением заболеваемости и затрат в медицине [5].

Искусственный интеллект – это общее понятие, которое подразумевает использование машинного труда для моделирования интеллектуального поведения с минимальным вмешательством человека. Впервые этот термин был официально озвучен на летнем семинаре в Дартмутском колледже в 1956 году, когда самые ранние модели ИИ пытались воспроизвести работу одного нейрона. Простые системы обладали примитивными функциями ввода-вывода. Атмосфера всеобщего недоверия к разработкам технологий ИИ привела к так называемой «первой зиме ИИ» с 1974 по 1980 год, сменившись периодом «новых надежд», который продлился до 1987 года. Далее наступила «вторая зима ИИ», которая закончилась лишь в 1993 году [5]. Возникла новая волна интереса к ИИ, которая была связана с увеличением вычислительной мощности, созданием более сложных систем, что в конечном итоге стало основой современных нейронных сетей [6–8].

Устройства ИИ делятся на две основные категории. Первая включает в себя методы машинного обучения (Machine Learning, ML), которые анализируют структурированные данные: группируют данные пациентов или делают вывод о вероятности исходов заболевания. К его подвиду относится глубокое обучение (Deep Learning, DL). Методы ML могут быть контролируемыми и неконтролируемыми [9]. Контролируемый алгоритм использует набор данных, который содержит входные функции, помеченные в начале обучения, для сопоставления и установления значимых отношений между входными данными и соответствующими выходными, а также для создания модели, которая способна различать выходные метки. Затем обученная модель делает прогнозы на основе новых полученных данных [10]. Неконтролируемые модели – это системы, управляемые данными, которые автоматически извлекают уроки из взаимоотношений между элементарными битами информации, связанных с каждой переменной набора данных [11]. Вторая категория включает в себя

методы обработки естественного языка (Natural Language Processing, NLP), которые структурируют имеющуюся информацию, например, для создания медицинских баз [9].

Несмотря на неугасающие споры по поводу необходимости и пользы внедрения в практику ИИ, остановить этот процесс уже невозможно. Бесспорно, к положительным аспектам внедрения ИИ относятся возможность его применения в монотонной, тяжелой работе; непрерывность обучения; способность анализировать и упорядочивать большие базы данных за короткое время; отсутствие эмоций и субъективного отношения, что помогает в принятии решений; сосредоточенность на конкретной задаче; возможность круглосуточной работы без потери качества.

Противники внедрения ИИ ссылаются на уменьшение количества рабочих мест для людей в определенных секторах (забывая, правда, что во многих сферах, в частности в медицине, имеет место кадровый дефицит, и особенно катастрофически выглядит ситуация с медицинскими работниками в отдаленных местностях). Также машина, по их мнению, не способна мыслить дальше поставленной задачи, а может выполнять только то, на что запрограммирована. К недостаткам в этой области относят и существенные затраты на производство соответствующего оборудования [13].

■ ЦЕЛЬ

Обзор программ искусственного интеллекта для выполнения цервикального скрининга и кольпоскопии.

Стратегии поиска. Поиск литературы, посвященной технологиям искусственного интеллекта для выполнения цитологического исследования и кольпоскопии, был произведен на платформе PubMed. Анализировались работы, опубликованные в период с 2019 по 2024 год. Ключевые слова запросов: “cervical screening”, “artificial intelligence in gynecology”, “artificial intelligence in colposcopy”, “artificial intelligence in cervical screening”.

■ ПРИМЕНЕНИЕ ИСКУССТВЕННОГО ИНТЕЛЛЕКТА ДЛЯ ЦЕРВИКАЛЬНОГО СКРИНИНГА

На протяжении последних 15 лет актуальной проблемой в гинекологии остается стабильно высокий уровень заболеваемости раком шейки матки (РШМ) [14, 15]. Основная причина – недостаточный охват населения цервикальным скринингом и вакцинацией. Особенно остро проблема стоит в странах с низким уровнем дохода, где недоступна квалифицированная медицинская помощь ввиду нехватки кадров и финансового дефицита. Реализация цервикального скрининга требует лабораторного оснащения,

транспортировки образцов, многократных посещений для выполнения скрининга и лечения, а также привлечения высококвалифицированных цитологов и кольпоскопистов. Оснащение медицинских учреждений устройствами ИИ во многом решает проблему [16–18]. На сегодняшний день уже созданы программы для чтения цитологических изображений, идентификации вируса папилломы человека (ВПЧ) и кольпоскопии.

На основе 188 542 цифровых цитологических изображений с помощью DL была создана программа ИИ для интерпретации мазка по Папаниколау (AI-Pap). За эталон был принят результат гистологического исследования. В исследование было включено 2145 женщин, у каждой из них был произведен забор двух образцов с шейки матки, один из которых интерпретировала AI-Pap, другой – опытный цитолог. AI-Pap обнаружил 92,6% CIN 2 и 96,1% CIN 3+, что сопоставимо или лучше результатов ручного подсчета. Анализ с помощью ИИ имел эквивалентную чувствительность (относительная чувствительность 1,01) и более высокую специфичность (относительная специфичность – 1,26) по сравнению с выводами опытных цитологов. У ВПЧ-положительных женщин чтение образцов с помощью программы увеличивало специфичность для CIN 1 и меньше, без снижения чувствительности по сравнению с ручным подсчетом [19, 20].

Н. Бао и соавт. (2020) с помощью этой программы ИИ провели цитологическое исследование с участием 703 103 женщин, из которых 98 549 были независимо проверены цитологами. Совпадение заключений AI-Pap и ручного метода составило 94,7%. При этом цитологическое заключение ИИ было на 5,8% более чувствительно к обнаружению CIN2+, чем ручное, с небольшим снижением специфичности [21].

Исследование, опубликованное в 2023 году, включало 3514 женщин, 13,9% из которых были инфицированы ВПЧ. Оценивалась чувствительность программы ИИ для оценки результатов жидкостной цитологии (AI-LBC), которая была сопоставима с ручным подсчетом цитологами (86,49% против 83,78%). При этом была значительно выше, чем типирование HPV16/18 при обнаружении CIN2+ (86,49% против 54,05%), в то время как специфичность AI-LBC была значительно ниже, чем при идентификации ВПЧ 16/18 типов (51,33% против 87,17%), но выше, чем у цитологов при обнаружении CIN2+ (51,33% против 40,93%). AI-LBC сократил направление на кольпоскопию примерно на 10% по сравнению с ручным подсчетом, что сокращает материальные затраты. Подобные закономерности также наблюдались для CIN3+ [22, 23].

Исследование, проведенное в Китае, выявило, что высокая стоимость создания программ ИИ оправдывает себя. Применение AI-LBC для интерпретации результатов жидкостной цитологии раз в 5 лет может быть более экономически эффективным, чем привлечение цитологов [24].

■ ИСКУССТВЕННЫЙ ИНТЕЛЛЕКТ ДЛЯ КОЛЬПОСКОПИИ

В последние годы технологии ИИ стремительно развиваются в диагностике злокачественных новообразований, таких как рак молочной железы, опухоли желудочно-кишечного тракта [25, 26]. В гинекологии применение

методов визуализации также набирает обороты, и прежде всего это касается кольпоскопии [27]. Дефицит высококвалифицированных специалистов в этой области отмечают во всем мире. А основным недостатком метода является его «операторозависимость», так как результаты чувствительности и специфичности варьируют в широких пределах, что диктует необходимость оснащения кольпоскопов технологией ИИ [28–32].

Система Faster R-CNN была создана на основе DL при обработке в период с 1993 по 2000 год изображений шейки матки 9406 женщин Коста-Рики с помощью метода цервикогграфии, который в настоящее время не используется. Он основан на интерпретации двух фотографий шейки матки, которые были сделаны каждой пациентке после нанесения уксусной кислоты с помощью цервископа – пленочной камеры с фиксированным фокусом и кольцевым освещением. В результате данная разработка способна выявить в 55,7% случаев CIN 2+ у женщин в возрасте от 25 до 49 лет [30–31].

В Китае разработана система Colposcopic Artificial Intelligence Auxiliary Diagnostic System (CAIADS). Для ее создания было отобрано 19 435 анонимных цифровых записей пациентов из шести больниц. Записи включали кольпоскопические изображения, клинические данные и результаты гистологического исследования, которые являлись «золотым стандартом». Процент совпадения результатов CAIADS с гистологическим заключением был выше, чем при интерпретации врачами-специалистами (82,2% против 65,9%). При идентификации HSIL+ CAIADS показал более высокую чувствительность, чем заключение кольпоскописта (71,9% против 60,4%), в то время как специфичность была сопоставима (93,9% против 94%) [32–35].

Aiyuan Wu и соавт. (2023) тестировали систему CAIADS и результаты, полученные опытным и начинающим кольпоскопистом. Для обнаружения CIN2+ и CIN3+ CAIADS показал чувствительность на уровне 80%, которая была практически сопоставима с результатами опытного кольпоскописта (для CIN2+: 80,6% против 91,3%; CIN3+: 80,0% против 90,0%). При сравнении показателей CAIADS и начинающего кольпоскописта показатели чувствительности AI были выше (для CIN2+: 95,1% против 79,6%; для CIN3+: 97,1% против 85,7%). При обнаружении рака шейки матки CAIADS достигла самой высокой чувствительности на 100% [36].

CerviCARE AI (Корея) – система ИИ для анализа кольпоскопических изображений, реализуемая с помощью системы TeleCervicography. Для ее создания был отобран 33 531 снимок для последующего анализа. 9639 увеличенных фотографий было использовано для обучения распознаванию шейки матки. Далее проводилась предварительная обработка изображений (резка (Images sharpening), выравнивание гистограммы (Histogram equalization), CLAHE). На 22 725 снимках было проведено обучение для классификации предраковых поражений и РШМ. Оценка эффективности модели тестировалась на 400 изображениях, которые не были использованы в процессе обучения. При первичной проверке чувствительность CerviCARE AI к цервикальным поражениям высокой степени составляет 98,0%. При вторичной проверке для общей популяции чувствительность достигла 97,5%, специфичность 95,5% [37, 38].

Еще одна система ИИ Cerviray AI (Сеул, Корея) создана с использованием более 10 000 кольпоскопических изображений, которые были введены в алгоритм обучения, наряду с результатами гистологических исследований и клиническими данными. Система Cerviray AI выдает один из вариантов заключения: норма, CIN 1, CIN 2-3 или рак. Проведено тестирование данной системы с участием 234 женщин. Все кольпоскопические изображения были интерпретированы двумя опытными специалистами в области кольпоскопии и системой Cerviray AI [39, 40]. Чувствительность ИИ составила 74,14%, специфичность 83,05%. Чувствительность метода в исполнении докторов составила 71,55% и 69,83%, специфичность 87,29% и 81,36% соответственно.

Научные сотрудники ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России совместно со специалистами ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого» с 2021 года занимаются разработкой программы ИИ для чтения и интерпретации кольпоскопических изображений. Уже создана база данных «Регистр кольпоскопических изображений, полученных в ходе обследования пациенток с заболеванием шейки матки» (№2023620209), которая продолжает пополняться для

обучения отечественной программы ИИ для кольпоскопов. Данная разработка будет внедрена в цифровой портативный кольпоскоп отечественного производства (патент на полезную модель №222399), разработанный на базе ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ИИ в медицине является важным инструментом совершенствования врачебной деятельности специалистов. Разработанные системы диагностики, основанные на ИИ, позволяют диагностировать заболевания и прогнозировать их, а синергия ИИ и врача может значительно повысить эффективность лечения различных заболеваний, улучшить имеющиеся клинические стандарты оказания медицинской помощи.

ИИ в гинекологии – прогрессивно развивающееся направление, в котором нашли отражение различные способы клинической визуализации, цервикального скрининга и цифровой кольпоскопии. Современные достижения зарубежных и отечественных разработок в области применения ИИ значительно способствуют повышению доступности методов визуального скрининга. ■

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ	ADDITIONAL INFORMATION
Источник финансирования. Исследование проводилось без спонсорской поддержки.	Study funding. This research received no external funding.
Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием настоящей статьи.	Conflict of interest. The authors declare that there are no obvious or potential conflicts of interest associated with the content of this article.
Участие авторов. А.В. Колсанова – разработка концепции исследования, редактирование текста. С.М. Чечко – сбор и обработка научного материала, написание текста статьи. Е.Ф. Кира – техническая доработка текста, редактирование текста статьи. А.Р. Шамшатдинова – анализ литературы, написание текста статьи.	Contribution of individual authors. A.V. Kolsanova – development of the research concept, text editing; S.M. Chechko – collection and processing of scientific material, writing of the text of the article; E.F. Kira – technical revision of the text, editing of the text of the article; A.R. Shamshatdinova – literature analysis, writing of the text of the article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Dhombres F, Bonnard J, Bailly K, et al. Contributions of Artificial Intelligence Reported in Obstetrics and Gynecology Journals: Systematic Review. *J Med Internet Res.* 2022;24(4):e35465. DOI: <https://doi.org/10.2196/35465>
- Yin J, Ngiam KY, Teo HH. Role of Artificial Intelligence Applications in Real-Life Clinical Practice: Systematic Review. *J Med Internet Res.* 2021;23(4):e25759. DOI: <https://doi.org/10.2196/25759>
- Xu J, Xue K, Zhang K. Current status and future trends of clinical diagnoses via image-based deep learning. *Theranostics.* 2019;9(25):7556-7565. DOI: <https://doi.org/10.7150/thno.38065>
- Francesconi E. The winter, the summer and the summer dream of artificial intelligence in law: Presidential address to the 18th International Conference on Artificial Intelligence and Law. *Artif Intell Law (Dordr).* 2022;30(2):147-161. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10506-022-09309-8>
- Ashrafian H, Darzi A, Athanasiou T. A novel modification of the Turing test for artificial intelligence and robotics in healthcare. *Int J Med Robot.* 2015;11(1):38-43. DOI: <https://doi.org/10.1002/rcs.1570>
- Hamet P, Tremblay J. Artificial intelligence in medicine. *Metabolism.* 2017;69:36-40. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2017.01.011>
- Muthukrishnan N, Maleki F, Ovens K, et al. Brief History of Artificial Intelligence. *Neuroimaging Clin N Am.* 2020;30(4):393-399. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nic.2020.07.004>
- Howard J. Artificial intelligence: Implications for the future of work. *Am J Ind Med.* 2019;62(11):917-926. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajim.23037>
- Jiang F, Jiang Y, Zhi H, et al. Artificial intelligence in healthcare: past, present and future. *Stroke Vasc Neurol.* 2017;2(4):230-243. DOI: <https://doi.org/10.1136/svn-2017-000101>
- Rashidi HH, Tran N, Albahra S, et al. Machine learning in health care and laboratory medicine: General overview of supervised learning and Auto-ML. *Int J Lab Hematol.* 2021;43(1):15-22. DOI: <https://doi.org/10.1111/ijlh.13537>
- Cleret de Langavant L, Bayen E, Yaffe K. Unsupervised Machine Learning to Identify High Likelihood of Dementia in Population-Based Surveys: Development and Validation Study. *J Med Internet Res.* 2018;20(7):e10493. DOI: <https://doi.org/10.2196/10493>
- Fedotov VA. Artificial intelligence: advantages and disadvantages. *Scientific electronic journal Meridian.* 2021;2(55):27-29. (In Russ.). [Федотов В.А. Искусственный интеллект: преимущества и недостатки. *Научный электронный журнал Меридиан.* 2021;2(55):27-29]. URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_44745539_73779427.pdf

13. Nesterova EA. On the issue of artificial intelligence in the context of human development. In: *Man and society: history and modernity*. 2024;138-142. (In Russ.). [Нестерова Е.А. К вопросу об искусственном интеллекте в контексте развития. В сб.: *Человек и общество: история и современность*. 2024;138-142].
14. Kaprin AD, Starinskiy VV, Shakhzadova AO. *State of oncological care for the population of Russia in 2021*. М., 2022. (In Russ.). [Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. *Состояние онкологической помощи населению России в 2021 году*. М., 2022]. ISBN 978-5-85502-297-1
15. Cohen PA, Jhingran A, Oaknin A, et al. Cervical cancer. *Lancet*. 2019;393:169-182. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(18\)32470-x](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(18)32470-x)
16. Watson M, et al. Surveillance of high-grade cervical cancer precursors (CIN III/AIS) in four population-based cancer registries, United States, 2009–2012. *Prev Med*. 2017;103:60-65. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2017.07.027>
17. Ahmed SR, Befano B, Lemay A, et al. Reproducible and clinically translatable deep neural networks for cancer screening. Preprint. *Sci Rep*. 2023;rs.3.rs-2526701. DOI: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2526701/v1>
18. Wang CW, Liou YA, Lin YJ, et al. Artificial intelligence-assisted fast screening cervical high grade squamous intraepithelial lesion and squamous cell carcinoma diagnosis and treatment planning. *Sci Rep*. 2021;11(1):16244. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95545-y>
19. Bao H, Bi H, Zhang X, et al. Artificial intelligence-assisted cytology for detection of cervical intraepithelial neoplasia or invasive cancer: A multicenter, clinical-based, observational study. *Gynecol Oncol*. 2020;159(1):171-178. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2020.07.099>
20. Song T, et al. Screening capacity and cost-effectiveness of the human papillomavirus test versus cervicography as an adjunctive test to Pap cytology to detect high-grade cervical dysplasia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2019;234:112-116. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2019.01.008>
21. Bao H, Sun X, Zhang Y, et al. The artificial intelligence-assisted cytology diagnostic system in large-scale cervical cancer screening: A population-based cohort study of 0.7 million women. *Cancer Med*. 2020;9(18):6896-6906. DOI: <https://doi.org/10.1002/cam4.3296>
22. Xue P, Xu HM, Tang HP, et al. Assessing artificial intelligence enabled liquid-based cytology for triaging HPV-positive women: a population-based cross-sectional study. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2023;102(8):1026-1033. DOI: <https://doi.org/10.1111/aogs.14611>
23. Shen M, Zou Z, Bao H, et al. Cost-effectiveness of artificial intelligence-assisted liquid-based cytology testing for cervical cancer screening in China. *Lancet Reg Health West Pac*. 2023;34:100726. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lanwpc.2023.100726>
24. Derclé L, Lu L, Schwartz LH, et al. Radiomics response signature for identification of metastatic colorectal cancer sensitive to therapies targeting EGFR pathway. *J Natl Cancer Inst*. 2020;112(9):902-12. DOI: <https://doi.org/10.1093/jnci/djaa017>
25. Rodriguez-Ruiz A, Lång K, Gubern-Merida A, et al. Stand-alone artificial intelligence for breast cancer detection in mammography: comparison with 101 radiologists. *J Natl Cancer Inst*. 2019;111(9):916-22. DOI: <https://doi.org/10.1093/jnci/djy222>
26. Brandão M, Mendes F, Martins M, et al. Revolutionizing Women's Health: A Comprehensive Review of Artificial Intelligence Advancements in Gynecology. *J Clin Med*. 2024;13(4):1061. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm13041061>
27. Stuebs FA, Schulmeyer CE, Mehlhorn G, et al. Accuracy of colposcopy-directed biopsy in detecting early cervical neoplasia: a retrospective study. *Arch Gynecol Obstet*. 2019;299(2):525-532. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00404-018-4953-8>
28. Hou X, Shen G, Zhou L, et al. Artificial Intelligence in Cervical Cancer Screening and Diagnosis. *Front Oncol*. 2022;12:851367. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.851367>
29. Bray F, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018;68(4):394-424. DOI: <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
30. Chandran V, et al. Diagnosis of Cervical Cancer based on Ensemble Deep Learning Network using Colposcopy Images. *Biomed Res Int*. 2021;2021:5584004. DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/5584004>
31. Champin D, Ramirez-Soto MC, Vargas-Herrera J. Use of Smartphones for the detection of uterine cervical cancer: A systematic review. *Cancers*. 2021;13(23):6047. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers13236047>
32. Alrajjal A, Pansare V, Choudhury MSR, et al. Squamous intraepithelial lesions (SIL: LSIL, HSIL, ASCUS, ASC-H, LSIL-H) of Uterine Cervix and Bethesda System. *Cytojournal*. 2021;18:16. DOI: https://doi.org/10.25259/Cytojournal_24_2021
33. Rebolj M, et al. A daunting challenge: Human Papillomavirus assays and cytology in primary cervical screening of women below age 30 years. *Eur J Cancer*. 2015;51(11):1456-1466. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2015.04.012>
34. Hu L, Bell D, Antani S, et al. An Observational Study of Deep Learning and Automated Evaluation of Cervical Images for Cancer Screening. *J Natl Cancer Inst*. 2019;111(9):923-932. DOI: <https://doi.org/10.1093/jnci/djy225>
35. Xue P, Tang C, Li Q, et al. Development and validation of an artificial intelligence system for grading colposcopic impressions and guiding biopsies. *BMC Med*. 2020;18(1):406. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12916-020-01860-y>
36. Wu A, Xue P, Abulizi G, et al. Artificial intelligence in colposcopic examination: A promising tool to assist junior colposcopists. *Front Med (Lausanne)*. 2023;10:1060451. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmed.2023.1060451>
37. Ouh YT, Kim TJ, Ju W, et al. Development and validation of artificial intelligence-based analysis software to support screening system of cervical intraepithelial neoplasia. *Sci Rep*. 2024;14(1):1957. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-51880-4>
38. Kim S, Lee H, Lee S, et al. Role of Artificial Intelligence Interpretation of Colposcopic Images in Cervical Cancer Screening. *Healthcare (Basel)*. 2022;10(3):468. DOI: <https://doi.org/10.3390/healthcare10030468>
39. Khan MJ, et al. ASCCP colposcopy standards: Role of colposcopy, benefits, potential harms, and terminology for colposcopic practice. *J Low Genit Tract Dis*. 2017;21(4), 223-229. DOI: <https://doi.org/10.1097/LGT.0000000000000338>
40. Akazawa M, Hashimoto K. Artificial intelligence in gynecologic cancers: Current status and future challenges—A systematic review. *Artif Intell Med*. 2021;120:102164. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.artmed.2021.102164>

Взаимосвязь портальной гипертензии и соматической конституции: обоснование концепции

Ю.О. Жариков¹, И.А. Волошин¹, Р.В. Масленников¹, А.Н. Гаджихмедова¹,
Т.С. Жарикова^{1, 2}, В.Н. Николенько^{1, 2}

¹ФГАОУ ВО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Москва, Российская Федерация)

²ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»
(Москва, Российская Федерация)

Аннотация

Портальная гипертензия, являющаяся одним из серьезных последствий цирроза печени, способствует усугублению таких осложнений, как асцит, варикозное расширение вен пищевода, желудка и передней брюшной стенки, спленомегалии и печеночной энцефалопатии.

В обзорной статье оценены биомолекулярные механизмы, обуславливающие роль конституциональных особенностей человека в качестве прогностического фактора портальной гипертензии и течения цирроза печени. Проведен поиск публикаций и анализ литературных источников с использованием баз данных PubMed и eLibrary.ru преимущественно за последние 10 лет. По ключевым словам выполнен поиск публикаций, в результате которого было обнаружено 6418 работ (3623 из которых

полнотекстовые), проведено изучение 108 публикаций, из которых на 23 публикации представлены ссылки.

Анализ литературы позволил определить один из ведущих биомолекулярных механизмов, обуславливающих корреляцию конституциональных особенностей организма, а именно увеличенного эндоморфного компонента, и риска развития портальной гипертензии. Наибольшее влияние на эндоморфный компонент состава тела оказывают провоспалительные факторы, инсулинорезистентность и отсутствие синдрома сенситизации к инсулину, вызванного приемом пищи.

Ключевые слова: цирроз печени, портальная гипертензия, соматическая конституция, биомолекулярные пути, риски.

Конфликт интересов: не заявлен.

Для цитирования:

Жариков Ю.О., Волошин И.А., Масленников Р.В., Гаджихмедова А.Н., Жарикова Т.С., Николенько В.Н. **Взаимосвязь портальной гипертензии и соматической конституции: обоснование концепции.** Наука и инновации в медицине. 2024;9(4):251-255.

DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM626927>

Сведения об авторах

Жариков Ю.О. – канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры анатомии и гистологии человека Института клинической медицины.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9636-3807>

E-mail: dr_zharikov@mail.ru

Волошин И.А. – студент Института клинической медицины.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-5108-6813>

E-mail: petsounds@yandex.ru

Масленников Р.В. – канд. мед. наук, доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии Института клинической медицины.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7513-1636>

E-mail: mmmm00@yandex.ru

Гаджихмедова А.Н. – студентка Института клинической медицины.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2557-5647>

E-mail: ai.kidman@mail.ru

Жарикова Т.С. – канд. мед. наук, доцент кафедры анатомии и гистологии человека Института клинической медицины; доцент кафедры нормальной и топографической анатомии.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6842-1520>

E-mail: dr_zharikova@mail.ru

Николенько В.Н. – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой анатомии и гистологии человека Института клинической медицины; заведующий кафедрой нормальной и топографической анатомии.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9532-9957>

E-mail: vn.nikolenko@yandex.ru

Список сокращений

ПГ – портальная гипертензия; ЦП – цирроз печени; ИМТ – индекс массы тела; НАЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени; СЖК – свободные жирные кислоты; ROS – reactive oxygen species.

Автор для переписки

Жариков Юрий Олегович

Адрес: Сеченовский университет, ул. Моховая, 11, стр. 10, г. Москва, Россия, 125009.

E-mail: dr_zharikov@mail.ru

Получено: 14.02.2024

Одобрено: 12.03.2024

Опубликовано: 27.10.2024

Correlation between portal hypertension and somatic constitution: rationale behind the concept

Yurii O. Zharikov¹, Ilya A. Voloshin¹, Roman V. Maslennikov¹, Aida N. Gadzhiakhmedova¹,
Tatyana S. Zharikova^{1, 2}, Vladimir N. Nikolenko^{1, 2}

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University)
(Moscow, Russian Federation)

²Lomonosov Moscow State University (Moscow, Russian Federation)

Abstract

Portal hypertension, one of the serious consequences of liver cirrhosis, contributes to the aggravation of complications such as ascites, varicose veins of the esophagus, stomach and anterior abdominal wall, splenomegaly and hepatic encephalopathy. This review article evaluates the biomolecular mechanisms that determine the role of human constitutional characteristics as a prognostic factor for portal hypertension and the course of liver cirrhosis. A search for publications and an analysis of literary sources was conducted using the PubMed and eLibrary.ru databases, mainly for the last 10 years. A search for publications was performed by keywords, as a result of which 6418 works were found (3623 full-text papers), 108 publications were studied, of which 23 publications were referenced.

The analysis of papers resulted in the identification of one of the leading biomolecular mechanisms that determine the correlation between the constitutional features of the body, namely, an increased endomorphic component, and the risk of developing portal hypertension. The greatest influence on the endomorphic component of body composition derives from proinflammatory factors, insulin resistance and the absence of insulin sensitization syndrome caused by food intake.

Keywords: liver cirrhosis, portal hypertension, somatic constitution, biomolecular pathways, risks.

Conflict of interest: nothing to disclose.

Citation

Zharikov YuO, Voloshin IA, Maslennikov RV, Gadzhikhmedova AN, Zharikova TS, Nikolenko VN. **Correlation between portal hypertension and somatic constitution: rationale behind the concept.** *Science and Innovations in Medicine.* 2024;9(4):251-255. DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM626927>

Information about authors

Yurii O. Zharikov – MD, PhD, Associate professor of the Department of Human Anatomy and Histology of the Institute of clinical medicine.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9636-3807>

E-mail: dr_zharikov@mail.ru

Ilya A. Voloshin – student of the Institute of clinical medicine.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-5108-6813>

E-mail: petsounds@yandex.ru

Roman V. Maslennikov – MD, PhD, Associate professor, Department of Internal Medicine, Gastroenterology and Hepatology of the Institute of clinical medicine.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7513-1636>

E-mail: mmmm00@yandex.ru

Aida N. Gadzhikhmedova – student of the Institute of clinical medicine.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2557-5647>

E-mail: ai.kidman@mail.ru

Tatyana S. Zharikova – MD, PhD, Associate professor of the Department of Human Anatomy and Histology; Associate professor of the Department of normal and topographical anatomy.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6842-1520>

E-mail: dr_zharikova@mail.ru

Vladimir N. Nikolenko – MD, PhD, Professor, Head of the Department

of Human Anatomy and Histology of the Institute of clinical medicine;

Head of the Department of normal and topographical anatomy.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9532-9957>

E-mail: vn.nikolenko@yandex.ru

Corresponding Author

Yurii O. Zharikov

Address: Sechenov University, b. 10, 11 Mokhovaya st.,

Moscow, Russia, 125009.

E-mail: dr_zharikov@mail.ru

Received: 14.02.2024

Received: 12.03.2024

Published: 27.10.2024

ВВЕДЕНИЕ

Портальная гипертензия (ПГ) представляет собой синдром, в основе которого лежит повышение давления в системе воротной вены выше 12 мм рт. ст.

Причины возникновения ПГ можно подразделить на надпеченочные, печеночные (самые распространенные) и подпеченочные. В зависимости от этиологии заболевания основными симптомами могут являться асцит, варикозно расширенные вены пищевода, желудка и передней брюшной стенки, спленомегалия, печеночная энцефалопатия. В исследовании «Количественный анализ строения воротной вены печени и селезеночной вены у людей с разными соматотипами при портальной гипертензии» была установлена взаимосвязь между конституциональными особенностями организма и рисками тяжелого течения цирроза печени (ЦП) и портальной гипертензии. Выраженный эндоморфный компонент, то есть ожирение, увеличивает риск развития ЦП и ПГ, поэтому конституциональные особенности человека необходимо использовать в качестве прогностического фактора [1]. Представляют интерес механизмы, обуславливающие такую корреляцию и подтверждающие концепцию, что повышенный эндоморфный компонент тела является фактором риска развития и усугубления ПГ.

Для обоснования патофизиологических и биомолекулярных механизмов, за счет которых эндоморфный компонент тела, то есть ожирение, влияет на процесс развития ПГ, по ключевым словам был выполнен поиск публикаций в базах PubMed и eLibrary. Было обнаружено 6418 работ (3623 из которых полнотекстовые), проведено изучение 108 публикаций, из которых было отобрано 23 публикации.

ПРИЧИНЫ ПГ

Согласно данным литературы, надпеченочные и подпеченочные причины ПГ, такие как тромбоз воротной вены или печеночных вен, с ожирением не ассоциированы [2]. Ожирение ассоциировано с повышенным риском сердечной недостаточности. Так, риск увеличивается на 5% для мужчин и на 7% для женщин с каждой единицей показателя ИМТ [3]. Одним из последствий сердечной недостаточности является конгестивная (или сердечная) гепатопатия, при которой развиваются приводящие к фиброзу ишемия и синусоидальная гипертензия [4].

Основную роль играют печеночные причины ПГ. Цирроз печени, фиброз печени, стеатогепатит, вирусный

гепатит являются хроническими заболеваниями, приводящими к увеличению сопротивления внутрипеченочных сосудов и развитию ПГ [5]. Увеличение сопротивления на постсинусоидальном участке печеночной вены связано с сокращением миофибробластов и фиброзом, сужающим просвет синусоидов. Основную роль в фиброзе играют звездчатые клетки, находящиеся в перисинусоидальном пространстве и в норме депонирующие жирорастворимые витамины. При острых и хронических воспалительных процессах звездчатые клетки активируются при взаимодействии с веществами, выделенными поврежденными гепатоцитами, апоптотическими тельцами и реактивными видами кислорода (ROS), и дифференцируются в миофибробласты, пролиферирующие, мигрирующие в направлении хемоаттрактантов и продуцирующие компоненты внеклеточного матрикса [6].

Известно, что печень выполняет разные функции: участие в обмене белков, жиров и углеводов, обезвреживание токсических веществ, образование желчи, синтез белков плазмы крови. Для хронических воспалительных заболеваний печени (ЦП, НАЖБП, стеатогепатит и проч.) характерно нарушение и угнетение указанных функций вследствие уменьшения количества функционирующей паренхимы. При этом гепатоциты накапливают жиры и билирубин, увеличиваются в размерах. Если внутриклеточные повреждения достигают необратимого масштаба, происходит некроз или апоптоз гепатоцита.

В случае некроза нарушаются функции мембранных транспортеров, образуется дисбаланс ионов, вода поступает в клетку, вызывая ее разрыв. Даже до разрыва мембраны из-за дефектов в ней в межклеточное пространство может поступать содержимое цитоплазмы. Специфические вещества, выделяемые некротизирующей клеткой (АТФ, мочевая кислота и др.), действуют в качестве ассоциированных с повреждениями (damage-associated molecular patterns, DAMPs) молекулярных фрагментов, сигнализирующих окружающим клеткам, в том числе и иммунным, о повреждении и вызывающих секрецию провоспалительных цитокинов.

В случае апоптоза смерть клетки является контролируемой самой клеткой, происходит за счет активации каскада каспаз митохондриальными проапоптотическими белками (цитохром С и др.), выделяемыми в ответ на клеточные повреждения, или Fas-рецепторами, активируемыми

Fas-лигандом иммунных клеток. В результате не развивается воспаление, а апоптотические тельца фагоцитируются макрофагами [7].

■ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ПГ, СВЯЗАННЫЕ С ОЖИРЕНИЕМ

Действие провоспалительных факторов на паренхиму печени (рисунки 1, 2).

Ожирение характеризуется состоянием системного хронического воспаления низкой интенсивности [8]. Жировая ткань как эндокринный орган выделяет адипокины, подразделяющиеся на провоспалительные (ФНО- α , ИЛ-6, лептин, резистин) и противовоспалительные (адипонектин, трансформирующий фактор роста бета, ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-13, ИЛ-1). При ожирении увеличение размера адипоцитов провоцирует повышенную секрецию провоспалительных адипокинов [9].

Особенную связь с печенью имеет висцеральная жировая ткань за счет портальной системы, поэтому адипокины и жирные кислоты, выделяемые висцеральной жировой тканью, напрямую воздействуют на печень, вызывая аккумуляцию липидов в гепатоцитах [10]. Повышенный уровень выделяемого адипоцитами фактора транскрипции PPAR γ индуцирует экспрессию транслоказы жирных кислот (FAT/CD36) в гепатоцитах, ускоряя захват свободных жирных кислот из крови и приводя к аккумуляции диацилглицеролов, ненасыщенных жирных кислот и церамидов в гепатоцитах. При этом увеличивается окислительный стресс, выделяются провоспалительные цитокины самими гепатоцитами, способствуя активации Купферовских клеток, дополнительно выделяющих ФНО- α и ТФР- β . Также окислительный стресс приводит к функциональным нарушениям гепатоцитов [11], при которых в межклеточный матрикс выделяются ROS. Совокупность влияний

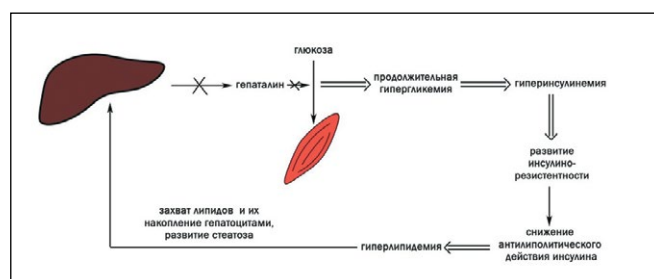


Рисунок 1. Биохимический каскад, приводящий к усугублению стеатоза печени.

Figure 1. Biochemical cascade leading to worsening hepatic steatosis.

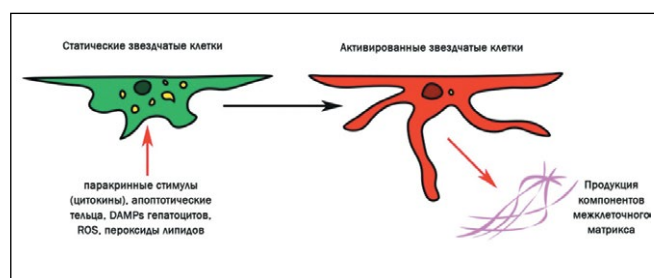


Рисунок 2. Молекулярный путь прогрессирования фиброза печени вследствие активации звездчатых клеток Ито.

Figure 2. Molecular pathway of liver fibrosis progression due to activation of Ito stellate cells.

цитокинов и ROS вызывает активацию звездчатых клеток и их преобразование в миофибробласты, продуцирующие компоненты межклеточного матрикса в пространство Диссе [12]. Таким образом развиваются фиброз, потеря фенестр синусоидальными эндотелиальными клетками (синусоидальная капилляризация), образование фиброзных перегородок, приводящее к развитию цирроза печени [13].

Инсулинорезистентность (рисунок 3).

Увеличение количества жировой ткани, в особенности висцеральной, ассоциировано с риском развития инсулинорезистентности [14]. Инсулинорезистентность способствует развитию ПГ на локальном (печеночном) и системном уровнях. Инсулин стимулирует продукцию NO эндотелием сосудов печени, активируя сигнальный путь фосфатидилинозитол-3-киназы и серин-треониновой киназы (PI3K/Akt). Последующее уменьшение продукции NO вызывает дисфункцию эндотелия капилляров [15]. В условиях инсулинорезистентности уменьшается антилипидное действие инсулина, что приводит к гиперлипидемии, то есть к увеличению концентрации свободных жирных кислот (СЖК) в крови. За счет повышенной экспрессии транслоказы жирных кислот (FAT/CD36) гепатоциты захватывают СЖК, из которых образуют триглицериды, накапливающиеся в гепатоцитах и усугубляющие стеатоз паренхимы органа. Жирные кислоты, в особенности ненасыщенные, при их избытке накапливаются в эндоплазматическом ретикулуме гепатоцитов, вызывая активацию проапоптотического фактора транскрипции СНОР и фермента JNK, которые индуцируют синтез проапоптотических белков BIM и PUMA, способствующих дисфункции митохондрий, образованию активных форм кислорода. Такое воздействие не только вызывает гибель клетки, но и негативно влияет на микроstromальное окружение [16]. Инсулинорезистентность в печени имеет селективный характер: действие инсулина не замедляет глюконеогенез, но при этом стимулирует липогенез [17], приводя к повышенному синтезу эндогенных жирных кислот, в основном пальмитиновой кислоты, что увеличивает концентрацию ненасыщенных СЖК в гепатоците и их токсическое действие на функционирующую паренхиму.

Синдром отсутствия индуцированной пищей сенситизации инсулина (AMISS – Absence of Meal-induced Insulin Sensitization Syndrome) (рисунки 4, 5).

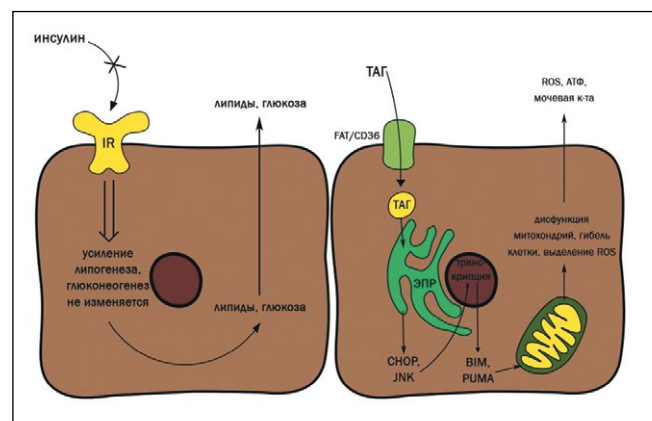


Рисунок 3. Молекулярные пути повреждения гепатоцита при инсулинорезистентности.

Figure 3. Molecular pathways of hepatocyte damage during insulin resistance.

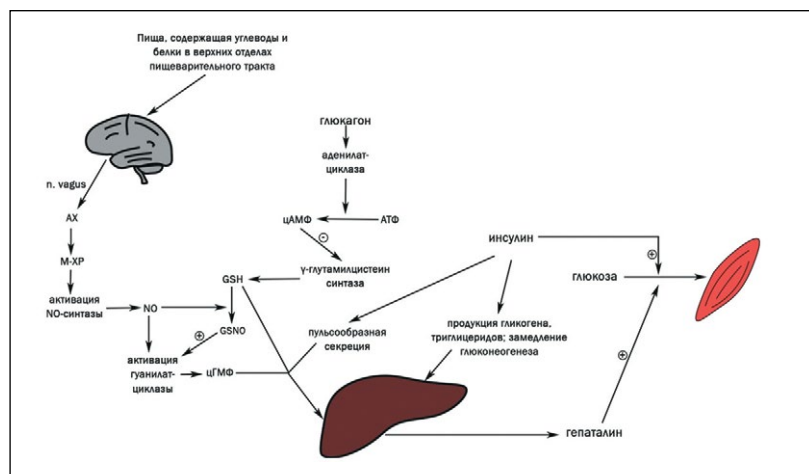


Рисунок 4. Путь активации выделения гепаталина в печени.

Figure 4. Pathway for activating hepatalin secretion by the liver.

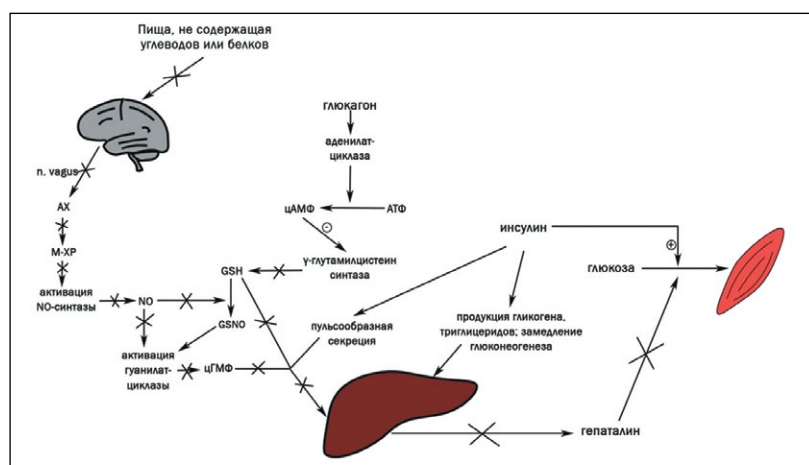


Рисунок 5. Изменение синтеза гепаталина вследствие изменения диеты.

Figure 5. Changes in hepatalin synthesis due to changes in diet.

В норме после приема пищи вместе с инсулином печенью выделяется гормон гепаталин, отвечающий за повышение чувствительности к инсулину в основном мышечной ткани. При нарушениях выделения гепаталина возникает пролонгированная постабсорбтивная гипергликемия с компенсаторной гиперинсулинемией и гиперлипидемией [18]. Глюкотоксический и липотоксический эффект на гепатоциты был рассмотрен выше.

В печени выброс гепаталина вызывается при одновременном действии трех стимулов: парасимпатического воздействия на печень через блуждающий нерв, достаточного уровня печеночного глутатиона и пульсообразного повышения концентрации инсулина (рисунок 1). Гепаталин является синергистом инсулина, выделяемым в норме после

полноценного приема пищи. В присутствии гепаталина усвоение глюкозы усиливается на 67% [19], при этом гепаталин действует на скелетные мышцы, почки, сердце, но не на печень или жировую ткань, стимулируя в них поглощение глюкозы и синтез гликогена [20, 21]. Парасимпатический сигнал выделяется в ответ на появление в желудке пищи, содержащей одновременно и белки, и углеводы, при этом отдельное введение белков, жиров или углеводов не вызывало образование сигнала [22]. Уровень печеночного глутатиона повышается на 40–50% после приема пищи, что достаточно для выделения гепаталина в присутствии двух оставшихся стимулов. При этом блокирование образования NO введением атропина для ингибирования M-холинорецепторов или ингибированием NO-синтазы привело к снижению выделения гепаталина [23]. Повышение уровня глюкагона в период голодания понижает уровень печеночного глутатиона, что приводит к отсутствию выделения гепаталина в ответ на инсулин (рисунок 2).

Предполагается, что хронические нарушения выделения гепаталина вследствие отсутствия одного из сигналов (например, систематическое принятие высокоуглеводной пищи с крайне малым количеством белка, не вызывающей парасимпатического сигнала) приводят

к развитию преддиабетического состояния и играют важную роль в патогенезе диабета. Несмотря на количество проведенных исследований гепаталина, его химическая структура до сих пор не была определена, что значительно усложняет его изучение и обуславливает необходимость его дальнейшего исследования.

Мы описали современное представление о биомолекулярных механизмах, обуславливающих роль конституциональных особенностей человека в качестве прогностического фактора портальной гипертензии при хронических воспалительных заболеваниях печени. Одно из ведущих мест занимает увеличение эндоморфного компонента (жировой ткани), определяющего эти молекулярные нарушения. Полученные данные особенно актуальны ввиду того, что в будущем цирроз печени, связанный с неалкогольной жировой болезнью печени, вероятно, станет более распространенным заболеванием из-за роста метаболических заболеваний, таких как ожирение и диабет [24].

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ	ADDITIONAL INFORMATION
Источник финансирования. Работа выполнена по инициативе авторов без привлечения финансирования.	Study funding. The study was the authors' initiative without external funding.
Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием настоящей статьи.	Conflict of interest. The authors declare that there are no obvious or potential conflicts of interest associated with the content of this article.

Участие авторов. Ю.О. Жариков – создание дизайна статьи, написание текста статьи, поиск литературы. И.А. Волошин – написание текста статьи, поиск литературы. Р.В. Масленников – анализ литературы. А.Н. Гаджихмедова – правка статьи, анализ литературы. Т.С. Жарикова – поиск литературы, правка статьи. В.Н. Николенко – редактирование статьи.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.

Contribution of individual authors. Yu.O. Zharikov – design of the article, writing of the text of the article, searching for literature; I.A. Voloshin – writing of the text of the article, searching for literature; R.V. Maslennikov – literature analysis; A.N. Gadziakhmedova – article editing, literature analysis; T.S. Zharikova – literature search, article editing; V.N. Nikolenko – article editing.

All authors gave their final approval of the manuscript for submission, and agreed to be accountable for all aspects of the work, implying proper study and resolution of issues related to the accuracy or integrity of any part of the work.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Zharikov YuO, Maslennikov RV, Gadziakhmedova AN, et al. Quantitative analysis of the structure of the portal vein of the liver and splenic vein in people with different somatotypes in portal hypertension. *Morphology*. 2022;160(3):171-176. [Жариков Ю.О., Масленников Р.В., Гаджихмедова А.Н., и др. Количественный анализ строения воротной вены печени и селезеночной вены у людей с разными соматотипами при портальной гипертензии. *Морфология*. 2022;160(3):171-176. DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.431613>
- Zakko A, T Kroner P, Nankani R, Karagozian R. Obesity is not associated with an increased risk of portal vein thrombosis in cirrhotic patients. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*. 2018;11(2):153-158. PMID: [PMC5990917](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35990917/)
- Kenchiah S, Evans JC, Levy D, et al. Obesity and the risk of heart failure. *N Engl J Med*. 2002;347(5):305-13. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa020245>
- Fortea JJ, Puente Á, Cuadrado A, et al. Congestive Hepatopathy. *Int J Mol Sci*. 2020;21(24):9420. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21249420>
- Simonetto DA, Liu M, Kamath PS. Portal Hypertension and Related Complications: Diagnosis and Management. *Mayo Clin Proc*. 2019;94(4):714-726. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2018.12.020>
- Kocabayoglu P, Friedman SL. Cellular basis of hepatic fibrosis and its role in inflammation and cancer. *Front Biosci (Schol Ed)*. 2013;5(1):217-30. DOI: <https://doi.org/10.2741/s368>
- Kumar V, Abbas AK, Aster JC. *Robbins and Cotran pathologic basis of disease (Ninth edition)*. Elsevier/Saunders, 2015:153 ISBN: [9781416031215](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2416031215/)
- Chang ML, Yang Z, Yang SS. Roles of Adipokines in Digestive Diseases: Markers of Inflammation, Metabolic Alteration and Disease Progression. *Int J Mol Sci*. 2020;21(21):8308. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21218308>
- Romacho T, Elsen M, Röhrborn D, Eckel J. Adipose tissue and its role in organ crosstalk. *Acta Physiol (Oxf)*. 2014;210(4):733-53. DOI: <https://doi.org/10.1111/apha.12246>
- Azzu V, Vacca M, Virtue S, et al. Adipose Tissue-Liver Cross Talk in the Control of Whole-Body Metabolism: Implications in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2020;158(7):1899-1912. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.12.054>
- Pan X, Wang P, Luo J, et al. Adipogenic changes of hepatocytes in a high-fat diet-induced fatty liver mice model and non-alcoholic fatty liver disease patients. *Endocrine*. 2015;48(3):834-47. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12020-014-0384-x>
- Boutari C, Perakakis N, Mantzoros CS. Association of Adipokines with Development and Progression of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Endocrinol Metab (Seoul)*. 2018;33(1):33-43. DOI: <https://doi.org/10.3803/EnM.2018.33.1.33>
- Parthasarathy G, Revelo X, Malhi H. Pathogenesis of Nonalcoholic Steatohepatitis: An Overview. *Hepatol Commun*. 2020;4(4):478-492. DOI: <https://doi.org/10.1002/hep4.1479>
- Bastard JP, Fève B. The Relationship Among Obesity, Inflammation, and Insulin Resistance. *Eur Cytokine Netw*. 2013;11(1):4-12. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781118395318.ch17>
- Erice E, Llop E, Berzigotti A, et al. Insulin resistance in patients with cirrhosis and portal hypertension. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2012;302(12):G1458-65. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00389.2011>
- Mota M, Banini BA, Cazanave SC, Sanyal AJ. Molecular mechanisms of lipotoxicity and glucotoxicity in nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism*. 2016;65(8):1049-61. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2016.02.014>
- Lee SH, Park SY, Choi CS. Insulin Resistance: From Mechanisms to Therapeutic Strategies. *Diabetes Metab J*. 2022;46(1):15-37. DOI: <https://doi.org/10.4093/dmj.2021.0280>
- Lautt WW, Schafer J, Macedo MP, Legare DJ. Bethanechol and N-acetylcysteine mimic feeding signals and reverse insulin resistance in fasted and sucrose-induced diabetic rats. *Can J Physiol Pharmacol*. 2011;89(2):135-42. DOI: <https://doi.org/10.1139/y11-001>
- Patarrão RS, Lautt WW, Afonso RA, et al. Meal-induced insulin sensitization and its parasympathetic regulation in humans. *Can J Physiol Pharmacol*. 2008;86(12):880-8. DOI: <https://doi.org/10.1139/Y08-080>
- Fernandes AB, Patarrão RS, Videira PA, Macedo MP. Understanding postprandial glucose clearance by peripheral organs: the role of the hepatic parasympathetic system. *J Neuroendocrinol*. 2011;23(12):1288-95. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2011.02226.x>
- Xie H, Lautt WW. Insulin resistance of skeletal muscle produced by hepatic parasympathetic interruption. *Am J Physiol*. 1996;270(5 Pt 1):E858-63. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1996.270.5.E858>
- Afonso RA, Gaspar JM, Lamarão I, et al. Postprandial insulin action relies on meal composition and hepatic parasympathetics: dependency on glucose and amino acids: Meal, parasympathetics & insulin action. *J Nutr Biochem*. 2016;27:70-8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.08.023>
- Guarino MP, Correia NC, Lautt WW, Macedo MP. Insulin sensitivity is mediated by the activation of the ACh/NO/cGMP pathway in rat liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2004;287(3):G527-32. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00085.2004>
- Liu YB, Chen MK. Epidemiology of liver cirrhosis and associated complications: Current knowledge and future directions. *World J Gastroenterol*. 2022;28(41):5910-5930. DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.v28.i41.5910>

Оригинальное исследование | Original study article
DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM635822>

 This work is licensed under CC BY 4.0
© Authors, 2024

Evaluation of biocompatibility and osteoconductivity of a hybrid cell-tissue graft for bone regenerative medicine

Nataliya N. Danilkovich¹, Svetlana M. Kosmacheva¹, Aleksandra G. Ionova¹,
Kirill A. Krivorot², Andrei N. Mazurenko², Denis G. Alekseev³

¹Republican Scientific and Practical Center of Transfusiology and Medical Biotechnology (Minsk, Belarus)

²Republican Scientific and Practical Center of Traumatology and Orthopedics (Minsk, Belarus)

³Samara State Medical University (Samara, Russian Federation)

Abstract

Aim – to evaluate in vitro the biocompatibility and osteoconductivity of a hybrid graft based on a bioorganic matrix, human bone marrow mesenchymal stromal cells (BM-MSC) and osteogenic growth factors.

Material and methods. Bioorganic matrices were studied for biocompatibility with human BM-MSC culture used in traumatology and orthopedics. For promoted osteogenic differentiation of BM-MSCs, allogeneic plasma enriched with soluble platelet factors was used. The osteogenic potential of BM-MSCs by the synthesis of mRNAs of early (transcription factor 2 (Run X2), alkaline phosphatase (ALP)) and late genes (osteopontin (OSP)) of osteogenesis was analyzed. The properties of cell adhesion and proliferation of MSCs in the conditions of a three-dimensional hybrid graft by the MTT test and fluorescence microscopy were assessed.

Results. The biocompatibility of the studied bioorganic matrices with human BM-MSCs was established. The collagen matrix promoted rapid cell adhesion

and proliferation between the scaffold fibrils. It has also been established that allogeneic platelet-rich plasma affects the osteogenic differentiation of human BM-MSCs in vitro, increasing the expression of marker genes RunX2, ALP, OSP. When modeling a hybrid graft in vitro, the formation of a tight contact between the alloimplant and collagen biopolymer using MSCs was shown.

Conclusion. The biological properties of the developed hybrid cell-tissue graft characterize its biocompatibility and osteoconductivity of its constituent components, which makes it promising for use in regenerative medicine, especially in reconstructive surgery of bone defects.

Keywords: human bone marrow mesenchymal stromal cells, scaffolds, biopolymers, bioorganic matrix, biocompatibility, platelet-rich plasma, hybrid cell-tissue graft.

Conflict of interest: nothing to disclose.

Citation

Danilkovich NN, Kosmacheva SM, Ionova AG, Krivorot KA, Mazurenko AN, Alekseev DG. **Evaluation of biocompatibility and osteoconductivity of a hybrid cell-tissue graft for bone regenerative medicine.** *Science and Innovations in Medicine*. 2024;9(4):256-267. DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM635822>

Information about authors

Nataliya N. Danilkovich – Scientific officer of the laboratory of Stem Cell Biology and Genetics.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1245-0426>

E-mail: nndanilkovich@gmail.com

Svetlana M. Kosmacheva – PhD, Associate professor, Head of the laboratory of Stem Cells Biology and Genetics.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1617-8845>

E-mail: 4kosmacheva@mail.ru

Aleksandra G. Ionova – Junior researcher of the laboratory of Stem Cells Biology and Genetics.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-3884-9112>

E-mail: al_ionova96@mail.ru

Kirill A. Krivorot – PhD, Associate professor, Deputy Director for Organizational and Methodological work, neurosurgeon of the highest qualification category.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0456-2839>

E-mail: kirill.doc@mail.ru

Andrei N. Mazurenko – Head of Neurosurgical Department №2, PhD, Associate Professor. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7092-2615>

E-mail: mazurenko@mail.ru

Denis G. Alekseev – PhD, Associate professor, Leading researcher at the BioTech Research Institute.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4185-0709>

E-mail: D.G.Alekseev@samsmu.ru

Abbreviations

aPRP – allogenic plasma enriched with soluble platelet factors; DNA – deoxyribonucleic acid; U – action units; ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay; BM – bone marrow; LBM – lyophilized bone matrix; MSC – mesenchymal stromal cell; MTT-assay – a colorimetric assay for assessing cell metabolic activity; OM – osteogenic medium; RT-PCR – reverse transcription of PCR; FGM – full growth medium; PCR – polymerase chain reaction; RNA – ribonucleic acid; sGAGs – sulfated glucosaminoglycans; PC – platelet concentrate; PBS – phosphate buffered saline; FBS – fetal bovine serum; EBS – embryo bovine serum.

Corresponding Author

Nataliya N. Danilkovich

Address: Republican Scientific and Practical Center of Transfusiology and Medical Biotechnology, 160 Dolginovsky Trakt, Minsk, Belarus, 220053.

E-mail: nndanilkovich@gmail.com

Received: 08.07.2024

Accepted: 18.09.2024

Published: 29.10.2024

Оценка биосовместимости и остеокондуктивности гибридного клеточно-тканевого трансплантата для регенеративной медицины костной ткани

Н.Н. Данилкович¹, С.М. Космачева¹, А.Г. Ионова¹, К.А. Криворот², А.Н. Мазуренко², Д.Г. Алексеев³

¹Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий (Минск, Беларусь)

²Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии (Минск, Беларусь)

³ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России (Самара, Российская Федерация)

Аннотация

Цель – оценить биосовместимость и остеокондуктивность *in vitro* гибридного клеточно-тканевого трансплантата для регенеративной медицины костной ткани на основе биоорганического матрикса, мезенхимальных стромальных клеток костного мозга (КМ-МСК) человека и остеогенных факторов роста.

Материал и методы. Исследованы на биосовместимость с культурой КМ-МСК человека биоорганические матрицы, используемые в травматологии и ортопедии. Для направленной остеогенной дифференцировки КМ-МСК использовали аллогенную плазму, обогащенную растворимыми факторами тромбоцитов. Остеогенный потенциал КМ-МСК анализировали по синтезу последними мРНК ранних (фактора транскрипции 2 / Run X2, щелочная фосфатаза / ALP) и поздних генов (остеопонтин / OSP) остеогенеза. Свойства клеточной адгезии и пролиферации КМ-МСК в условиях трехмерного гибридного трансплантата оценивали с помощью МТТ-теста и флуоресцентной микроскопии.

Результаты. Установлена биосовместимость исследуемых биоорганических матрикс с КМ-МСК человека. Отмечена быстрая адгезия и пролиферация клеток между волокнами используемых матрикс. Также уста-

новлено, что аллогенная плазма, обогащенная растворимыми факторами тромбоцитов, достоверно влияет на остеогенную дифференцировку КМ-МСК человека *in vitro*, усиливая экспрессию маркерных генов RunX2, ALP, OSP. При имитации трехмерного гибридного клеточно-тканевого трансплантата *in vitro* показано формирование плотного контакта между аллогенной спонгиозой (костной тканью) и биоорганическим матриксом с помощью остеогенно предифференцированных КМ-МСК.

Выводы. Биологические свойства разработанного гибридного клеточно-тканевого трансплантата характеризуются биосовместимостью и остеокондуктивностью, что делает его перспективным для применения в регенеративной медицине, особенно в реконструктивной хирургии костных дефектов.

Ключевые слова: мезенхимальные стромальные клетки, костный мозг, биополимеры, биоорганический матрикс, биосовместимость, обогащенная тромбоцитами аллогенная плазма, гибридный клеточно-тканевый трансплантат.

Конфликт интересов: не заявлен.

Для цитирования:

Данилкович Н.Н., Космачева С.М., Ионова А.Г., Криворот К.А., Мазуренко А.Н., Алексеев Д.Г. Оценка биосовместимости и остеокондуктивности гибридного клеточно-тканевого трансплантата для регенеративной медицины костной ткани. Наука и инновации в медицине. 2024;9(4):256-267.
DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM635822>

Сведения об авторах

Данилкович Н.Н. – научный сотрудник лаборатории биологии и генетики стволовых клеток.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1245-0426>

E-mail: nndanilkovich@gmail.com

Космачева С.М. – заведующая лабораторией биологии и генетики стволовых клеток.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1617-8845>

E-mail: 4kosmacheva@mail.ru

Ионова А.Г. – младший научный сотрудник лаборатории

биологии и генетики стволовых клеток.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-3884-9112>

E-mail: al_ionova96@mail.ru

Криворот К.А. – канд. мед. наук, доцент, заместитель директора по организационно-методической работе, врач-нейрохирург высшей квалификационной категории.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0456-2839>

E-mail: kirill.doc@mail.ru

Мазуренко А.Н. – канд. мед. наук, заведующий нейрохирургическим отделением №2.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7092-2615>

E-mail: mazurenko@mail.ru

Алексеев Д.Г. – канд. мед. наук, доцент, ведущий научный сотрудник НИИ «БиоТех».

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4185-0709>

E-mail: D.G.Alekseev@samsmu.ru

Список сокращений

алПОРФТ – аллогенная плазма, обогащенная растворимыми факторами тромбоцитов; ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота; ЕД – единицы действия; ИФА – иммуноферментный анализ; КМ – костный мозг; ЛКМ – лиофилизированный костный матрикс; МСК – мезенхимальная стромальная клетка; МТТ-тест – колориметрический тест для оценки метаболической активности клеток; ОС – остеогенная среда; ОТ-ПЦР – обратная транскрипция ПЦР; ППС – полная питательная среда; ПЦР – полимеразная цепная реакция; РНК – рибонуклеиновая кислота; cГAg – сульфатированные глюкозаминогликаны; ТК – тромбоцитарный концентрат; ФСБ – фосфатно-солевой буфер; ФТС – fetalная телячья сыворотка; ЭТС – эмбриональная телячья сыворотка.

Автор для переписки

Данилкович Наталия Николаевна

Адрес: РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий, Долгиновский тракт, 160, г. Минск, Республика Беларусь, 220053.

E-mail: nndanilkovich@gmail.com

Получено: 08.07.2024

Одобрено: 18.09.2024

Опубликовано: 29.10.2024

INTRODUCTION

Bone reconstruction surgery, such as auto- and alloplasty, has become the 'gold standard' in the restoration of critically sized bone defects that are not capable of self-healing and maintain chronic inflammation. Alloplasty is the more prevalent and acceptable choice for patients since the use of allogeneous implants does not entail additional traumatization of the donor area and eliminates development of potential complications (bleeding and purulence). The evolution of the alloplasty method to repair non-healing defects would be regenerative medicine involving decellularized biomaterial, cell graft, osteogenic growth factors, implantation of devitalized allogeneic bone equivalent and biomedical cellular products of living cells, biomaterial and growth factors. Several cell populations are associated with bone tissue and its formation, but the most important are osteoblasts, osteocytes, and osteoclasts, which are responsible for bone formation (osteogenesis), maintenance, and resorption, respectively. These cell populations come from the bone marrow mesenchymal stromal cells (BM-MS). Compared to MSCs from the adipose tissue and the umbilical vein, the BM-MS manifest a credibly higher efficiency of osteogenic differentiation, which accounts

for their therapeutic perspective in cell transplantology and regenerative medicine of supporting tissue [1–6].

The osteogenic differentiation of BM-MS *in vitro* is easily stimulated in the monolayer cell culture by the addition of the β -glycerophosphate, hydrocortisone or ascorbic acid, which is confirmed by the increased expression of the early (Runx2 – Runt-associated transcription factors 2; ALP – alkaline phosphatase; BMP2 – bone morphogenetic protein 2 and osteonectin) and the late genes (OSP – osteopontin, osteocalcin) of the osteogenic differentiation [7]. Other growth factors also can perform as inducers of osteogenic differentiation towards BM-MS, namely, the representatives of the TGF- β superfamily (transforming growth factor β); IGF-1 (insulin-like growth factor 1); FGF (fibroblast growth factor); PDGF (platelet-derived growth factor) и VEGF (vascular endothelial growth factors) [1, 8].

The proliferation of BM-MS and their differentiation to osteoblasts are also regulated with their cellular micro-environment and signaling molecules in the processes of the bone tissue remodeling and repair of non-healing defects. The conjunctive use of BM-MS with osteoconductive carriers (matrices, scaffolds) may be an effective alternative to replacement of bone

defects with autologous grafts and allogenic implants [9, 10]. Regardless of the treatment method, a necessary condition for bone regeneration is the use of biomaterials that have an adhesive surface for the attachment of osteogenic cells and are capable of transmitting signals for the differentiation of the latter into osteoblasts in response to osteoinduction [11]. The introduction of cells into the bone defect area by injection is ineffective due to the impossibility of their long-term local presence with the receipt of a stimulating effect to start the tissue regeneration process, therefore it is advisable to transplant them on carriers (matrices, scaffolds) made of biopolymers [12].

Depending on their nature, the cellular carriers may be divided into the following groups: inorganic materials such as titanium or tricalcium phosphate ceramics [13]; synthetic biopolymers, such as polyhydroxy acids (polyglycolic acid, polylactic acid, polydioxanone); natural biopolymers such as collagen, gelatin, chitosan or agarose [14]; combined (composite) materials [15].

In relation to stimulation of regeneration, such carriers should be bioresorbable and have an osteoinductive, osteoconductive or combined effect.

The matrices and scaffolds are to have a porous structure to allow cell adhesion, proliferation and differentiation and to be permeable for bioactive substances [16–19]. The response of cells may depend on the physical and biological properties of the biomaterial used as a carrier. Such properties as topography, roughness, chemical composition, surface energy and charge, mimicking the extracellular matrix of native tissue, regulate cell morphology and thus differentiation; vital is the presence of bioactive ligands that can provide anchoring sites for cell attachment [20, 21].

Composite carriers that combine porosity (microstructure), bioactivity (osteoinductivity, osteoconductivity), bioresorbability and properties close to the native extracellular matrix of bone tissue can be potentially considered as the most promising matrices or scaffolds for stem cells in bone tissue engineering. The stimulation of osteogenic differentiation of BM-MSC cells with such osteoinductive and osteoconductive carriers may be amplified by the use of osteogenic growth factors present in the blood cells, specifically, in the platelets [22–25].

Over 30 growth factors were identified in the platelet granules, including bone tissue regeneration factors: TGF- β (transforming growth factor β) and BMP (bone morphogenetic protein) that modulate cell proliferation, stimulate genesis of osteoblasts and extracellular bone matrix, retard its degradation, and show an immunosuppressive effect. In addition to platelet factors, plasma proteins such as fibrin, fibronectin and vitronectin are also active participants in osteogenesis [26]. R.E. Marx *et al.* (1998) [27] used in their patients the autologous grafts taken from the ilium and saturated

with autologous plasma enriched with soluble platelet factors (PRP, Platelet Rich Plasma) to reconstruct the maxillofacial defects and found that this method increases the speed of bone tissue formation and fosters its higher density. Other researchers did not report such prominent advantages of the PRP in its combination with the demineralized allogeneous bone matrix in hybrid cellular tissue graft to regenerate the bone in nude mice [28].

■ AIM

To evaluate in vitro the biocompatibility and osteoconductivity of a hybrid cellular tissue graft based on a bioorganic matrix, human bone marrow mesenchymal stromal cells (BM-MSC) and osteogenic growth factors, for the regenerative medicine of bone tissue.

■ MATERIAL AND METHODS

Specimens of bioorganic matrices

The study focuses on four commercially available bioorganic matrices:

- “Collapan”, the composition of which includes a biopolymer serving as the basis of the organic component of bone tissue, namely, type I collagen, and hydroxyapatite with added antibiotic lincomycin hydrochloride (“Intermedapatit”, Russia)¹;
- “Osteomatrix”, highly purified bone matrix with natural histoarchitecture, preserved organic collagen (25%) and mineral (75%) components, containing not less than 1.5 mg/cm³ of affinity-bound bone biopolymers sulfated glucosaminoglycans (sGAG) (“Connectbiopharm”, Russia)²;
- “Lyostypt”, resorbable biopolymer collagen sponge manufactured from natural bovine tendons (B. Braun, Spain)³;
- “Lyophilized bone matrix” (LBM), immunologically safe and sterile bone allogeneous bioimplant prepared from post-vital donor material (“Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology”, Minsk, Belarus) [29, 30].

Production of plasma enriched with soluble platelet factors

All clinical procedures and collection of donor blood were carried out in accordance with the safety rules described in the World Health Organization guidelines [31]. For this purpose, allogeneic platelet rich plasma (alPRP) was used. It was obtained at the Republican Scientific and Practical Center for Transfusiology and Medical Biotechnology of the Ministry of Health of the Republic of Belarus. To produce the alPRP, platelet concentrate (PC) of the blood of donors was used; the donors were to be allowed to donate blood and not to have markers of viral infections (hepatitis B/HBV, hepatitis C/HCV, human immunodeficiency virus/HIV) after the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

¹ Available at: <https://collapan.ru>

² Available at: <https://bioimplantat.ru/>

³ Available at: <https://catalogs.bbraun.com/en-01/p/PRID00000356/lyostypt-local-haemostatic-agent>

and molecular genetic assay (in a polymerase chain reaction or similar assay).

The platelet concentrate (50×10^{12} cells per dose) was produced from donor blood drawn from the ulnar vein (450 ml of blood) with the special kit YCELLBIO-KIT ("BIONIR", Russia). Following that, the blood was centrifuged in two stages to remove red and white blood cells (1550 rpm, 400 g, 20 min) with subsequent concentration of platelets on the laboratory centrifuge Liston C 2201 ("Liston", Russia) at 2450 rpm, 1000 g, 20 minutes. In the resulting aPRP, the amount of platelets was calculated using the Sysmex XN-300 hematological analyzer (Sysmex Corporation, Germany); the amount was to be at least 1.25×10^9 /ml. The aPRP from 6 to 10 donors was stored in subsamples at the temperature of -30°C for 24 months. Before using the aPRP, the platelets were activated by a cycle of freeze-thawing with subsequent sedimentation of the cell debris by centrifuging (2900 rpm, 1400 g, 20 minutes). After the activation, the aPRP was used within the first hour [32].

Production of MSC culture from human bone marrow

To produce the BM-MSC culture, 10 ml of bone marrow (BM) was drawn from the iliac crest of healthy donors after obtaining the informed consent according to the resolution of the Ethics Committee of the Republican Scientific and Practical Center of Traumatology and Orthopedics of the Ministry of Health of the Republic of Belarus (Protocol No.3 dated 14.04.2021). The bone marrow punctate contained 20 U of high-molecular heparin per 1 ml of BM to deactivate the blood coagulation process. The BM punctate was then diluted 1:1 with Dulbecco phosphate buffer saline solution without calcium and magnesium (PBS) (Sigma-Aldrich, USA). Further, 20 ml of bone marrow was layered to 15 ml of medium (to separate the lymphocytes), the medium being a mixture of Ficoll and sodium diatrizoate with the density of 1.077 g/ml (Lonza, Switzerland) in 50 ml spin tubes (Corning, USA). The tubes were centrifuged at 450 g for 20 minutes. The mononuclear fractions were gathered in spin tubes with subsequent rinsing in α -modified Eagle's medium with α -MEM ribonucleosides (Gibco, USA) with 2% fetal bovine serum (FBS) (Sigma-Aldrich, USA) by centrifuging at 450 g and exposure for 10 minutes. The extraction of human BM-MSC from the mononuclear fraction was by the method of plastic adhesion in the concentration of $0.3\text{--}0.6 \times 10^6$ cells/cm² in T75 culture tubes (Sarstedt, Germany).

The cells were then cultivated in the CO₂-incubator at 5% CO₂ concentration (ESCO Cell Culture, Singapore) and at 37°C in the α -modified Eagle's medium (α -MEM) with ribonucleosides (Gibco, USA), augmented with 10% embryo bovine serum (EBS) (Sigma-Aldrich, CIIIA), 40 mM/ml glutamine (Gibco, USA) and 100 U/ml benzylpenicillin ("Pharm-Sintez", Russia) and 0.1 mg/ml streptomycin (Gibco, USA), i.e. in the full growth medium (FGM) [33]. The BM-MSC were reproduced in T75 culture tubes (Sarstedt, Germany) with initial concentration of 300.0×10^3 cells (passages 1 and 2). The culture medium was changed twice a

week. When the cells reached 80-90% of confluence, they were disengaged using trypsin/EDTA (Sigma-Aldrich, USA), and plated again in the concentration of 1500 cells/cm² (passages 2-3). The BM-MSC were then immunophenotyped as CD90+, CD105+, CD45-, CD34- by flow cytometry. The results were checked on the FACS flow cytometer (Becton Dickinson, USA). The viability was assessed by the method of exclusion of the trypan blue (at least 90%) [34].

Assessment of biocompatibility of bioorganic matrices with BM-MSC

The carrier matrices were used in an experiment with 10 mg samples. The matrix samples were then cured in an the α -MEM medium with 10% FBS, glutamine and antibiotic medium for 24 to obtain the supernatants. The human BM-MSC was plated to the 24-well cell plate (Sarstedt, Germany) in the initial concentration of 100.0×10^3 /cm² and cultivated for 24 hours. After the cell expansion, the FGM was removed from the plate cells and the prepared specimens of the carrier matrices (native specimens and their supernatants) were introduced directly to the wells with the human BM-MSC. The cultivation was at 37°C and 5% concentration of CO₂ in the CO₂-incubator (ESCO CelCulture, Singapore) in 200 μl of FGM. The biocompatibility and adhesion capacity of CM-MSCs on the surface of matrices and their supernatants were assessed in direct contact after 24-hour incubation after 1 and 7 days of co-cultivation by labeling with H33342 (Sigma-Aldrich, USA) at a concentration of 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$. For this purpose, human BM-MSCs populated on carriers were incubated with a solution of H33342 of the appropriate concentration at 37°C for 20 minutes. Following the tinting, the cells were flushed twice with PBS, and the FGM was then added [35]. Labeled cells were analyzed using a Leica DM200 fluorescence microscope (Leica Microsystems, Germany) at $\times 100$ magnification.

The cytotoxicity of the carrier matrices and their supernatants upon direct contact after 24-hour incubation after 1 and 7 days of co-cultivation was assessed using the MTT assay (Sigma-Aldrich, USA) [36]. The MTT reagent, at 5 mg/ml was introduced to the PBS to each well of the plate and incubated at 37°C for 4 hours. Then, dimethylsulfoxide (Serva, Germany) was added to each well to dissolve the formazan crystals that had formed as the result of the activity of living cells, and the tinted supernatant was detected at 570 μm on the BioTek® ELx 800 reader (BioTek, USA).

The experiments were performed in the following test groups where the human BM-MSC were cultivated together with the following bioorganic matrices: (1) "Collapan", (2) "Osteomatrix", (3) "Lyostypt", (4) LBM and (5) without a specimen in the FGM with similar cell concentrations as control. The viability of the BM-MSC, after joint cultivation with carrier matrices and their supernatants was calculated using the following equation (1):

$$(\text{OD}_{\text{exp}} / \text{OD}_{\text{control}}) \times 100\%$$

Respectively, the cytotoxicity of the carriers and their supernatants was calculated using the following **equation (2)**:

$$100\% - (OD_{\text{exp}} / OD_{\text{control}}) \times 100\%$$

where OD_{exp} – optical density of eluates from wells with cells and carriers or supernatants; OD_{control} – optical density of eluates from wells with cells cultivated only with FGM.

The quantitative criteria for assessing the cytotoxicity of the carrier matrices and their supernatants were as follows: low toxicity – death of up to 30% of cells (viability above 70%); medium toxicity – death of up to 30–50% of cells (viability 50–70%); high toxicity – death of over 50% of cells (viability below 50%).

As the basis for the creation and evaluation of a complex osteoconductive transplant at subsequent stages of the experiment, the bioorganic carrier that demonstrated the lowest cytotoxicity in relation to BM-MSC was selected.

Evaluation of expansion of human BM-MSC on a bioorganic carrier

In the wells of the 24-well cell plate, bioorganic carrier with the lowest identified cytotoxicity was placed. Human BM-MSC of the first passage was plated to the carrier with concentrations of the inoculate at 50.0×10^3 , 100.0×10^3 and 300.0×10^3 and cultivated for 7 days in the FGM with and without added 5% alPRP. The cells were then removed with a trypsin/EDTA solution (Sigma-Aldrich, USA). The quantity of viable cells was calculated by the method of exclusion of the trypan blue in the Goryaev chamber [37].

Evaluation of the osteogenic differentiation of human BM-MSC

After two passages, the human BM-MSC were plated to T25 vials (Sarstedt, Germany), 8000 /cm² each, for subsequent quantitative polymerase chain reaction (PCR assay) in real time in 35 mm Petri dishes for visible light microscopy after staining. The experiments studies four variants of cell cultivation: BM-MSC cultivated in FGM (control specimen); BM-MSC cultivated in FGM with 5% alPRP; BM-MSC cultivated in osteogenic medium (OM); BM-MSC cultivated in osteogenic medium (OM) with 5% alPRP.

The osteogenic medium contained the α -MEM environment with addition of 10% FBS, 10 mM β -glycerophosphate (Sigma Aldrich, USA), 50 mcg of ascorbic acid (Sigma Aldrich, USA) and 0.1 μ M dexamethasone (Sigma Aldrich, USA) [40]. The differentiation of BM-MSC was performed in the OM within four and seven days, the cultural medium being changed twice. The specimens of both osteogenic-induced and non-differentiated BM-MSC were cultivated in the presence of alPRP in the final concentration of 5%.

The *in vitro* evaluation of the osteogenic differentiation of the human BM-MSC was performed by real-time PCR with reverse transcription (RT-PCR) to identify expression of mRNA of the RUNX2, ALP and OSP genes

Genes	Forward primer 5' – 3'	Reverse primer 5' – 3'
RUNX2	CACTGGCGGTGCAACAAGA	TTTCATAACAGCGGAGGCATTC
ALP	GGTGGAAGGAGGCAGAATTG	TCAGAGTGCTCTCCGAGGAG
OSP	CACAGCATCTGGGTATTGTG	CGACCAAGGAAACTCACTACC
GapDH	CGCTCTCTGCTCCTCTGTT	CCATGGTGCTGAGCGATGT

Table 1. Nucleotide sequences for the RT-qPCR primers

Таблица 1. Нуклеотидные последовательности праймеров для ОТ-ПЦР

on the fourth and seventh days of cell cultivation. Intravital imaging of osteogenic-induced human BM-MSC and *in vitro* assessment of mineralization (formation of calcium deposits) were also performed using von Kossa staining on day 21 of cell induction.

The RT-PCR was performed in several stages [33, 38]. Firstly, primary extraction of the total RNA from the human BM-MSC cultivated in the T25 vials (Sarstedt, Germany) was performed. The extraction was done with the TRI Reagent (Sigma Aldrich, USA) according to the manufacturer's manual. Then the samples of total RNA were used to obtain complementary DNA (cDNA) by reverse transcription. The reaction was performed in 20 μ l mixture of 2 mcg of RNA, 5 μ M Oligo (dT18)-primer (Thermo Fisher Scientific, USA), 1 mM of deoxyribonucleotide triphosphate (dNTP) (Thermo Fisher Scientific, USA), 40 U of RNase inhibitor Ribolok (Thermo Fisher Scientific, USA), 1 μ l (200 u/ml) of reverse transcriptase RevertAid Premium and 5X buffer (Thermo Fisher Scientific, USA). Amplification was carried out for 30 min at 50°C. Reverse transcriptase was inactivated by heating at 85°C for 5 min.

The obtained cDNA was amplified as follows: 10 minutes at 95°C (polymerase activation) with subsequent amplification of 40 cycles at 60°C for 1 minute. In order to detect the osteogenic differentiation markers (RUNX2, ALP and OSP), the following primer pairs were used with the following nucleotide sequences (**Table 1**) [39].

Data were normalized relative to the reference gene glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GapDH). The real-time RT-PCR was performed on the CFX96 Touch REAL thermocycler (Bio-Rad, USA). The results were processed in the Bio-Rad CFX Manager software suite.

Relative gene expression was calculated by Livak's method using the following **formula (3)** [40]:

$$\text{Gene expression} = 2^{-\Delta Ct}$$

$$\Delta Ct = [Ct(\text{marker gene}) - Ct(\text{GapDH})]$$

Osteoblast formation and mineralization were assessed in Petri dishes (Sarstedt, Germany). The BM-MSC were stained with 1-2% solution of nitrate of silver for 45–60 minutes under UV light, then rinsed with distilled water and fixed with sodium thiosulfate for 5 minutes. The stained cells were then washed with deionized water, dried and evaluated using a light microscope Leica DM IL LED (Leica Microsystems, Germany) at $\times 100$ magnification. Morphological transformation was characterized by a change in cell

shape to cuboid with intracellular calcium phosphate deposits stained black [41].

In vitro modeling of the hybrid cellular tissue graft

While developing the hybrid cellular tissue graft to be used in regenerative medicine for the replacement of bone defects, we identified its major components: human BM-MSC pre-differentiated to an osteogenic phenotype; alPRP. To simulate the environment (bone tissue), we used the allogenic spongiose (surgical specimen). The macroscopic picture was described, the absolute number of pre-differentiated BM-MSCs in the graft was determined at the end of the 1st, 2nd and 3rd week of cultivation, and cell adhesion and distribution in the graft were assessed. To that end, intra-vital cell staining with fluorescent dye Hoechst 33342 was used (Sigma Aldrich, USA).

Statistical processing of data

The data from the studies are presented as the mean $\pm$ standard error of the mean ($M \pm SEM$) in the GraphPad Prism 6.0 software suite (GraphPad Software, Inc., USA). The reliability of differences in the variation series was assessed using the paired Student's t-test. Differences were reliable at $p < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Phenotypical characteristics of human BM-MSC

The immunophenotype of human BM-MSC of the second passage was characterized with expression of specific markers CD90+ and CD105+ and absence of markers CD34- and CD45-. The number of cells in the culture that were expressing the marker CD90+ was $99.9 \pm 0.14\%$, and those expressing the marker CD105+ was $99.14 \pm 1.23\%$. There was a minor quantity of cells expressing the markers CD34- ($0.45 \pm 0.20\%$) and CD45- ($0.30 \pm 0.07\%$). The culture was sterile (no bacteria or fungi), and the viability of the resulting cells was never below 90%.

Biocompatibility of bioorganic matrices with human BM-MSC

The main property of biopolymers and carrier matrices based on them when creating grafts for the restoration of large bone tissue defects should be the absence of a toxic effect on osteoprogenitor cells, as well as assistance in their attachment, proliferation and osteogenic differentiation. This stimulates the cells to synthesize new extracellular matrix on the surface of the carrier and its integration with the native bone tissue. Therefore, the

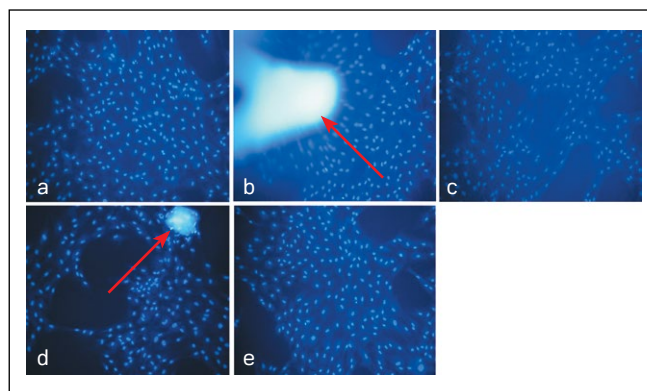


Figure 1. Nuclei labeling of Hoechst 33342 BM-MSCs after one day of cultivation with different carriers: (a) CCM (control sample); (b) Osteomatrix; (c) LBM; (d) Kollapan; (e) Lyostypt. Image taken at 100x magnification.

Рисунок 1. Прижизненное окрашивание ядер КМ-МСК человека Hoechst 33342 после 24 часов культивирования с различными носителями: (а) ППС (контроль); (б) Остеоматрикс; (с) ЛКМ; (д) Коллапан; (е) Лиостипт. Изображение увеличено в $\times 100$.

carriers are to be compatible with BM-MSC supporting the cellular activity and mechanical integrity to foster a successful process of healing the defect of the bone tissue [11]. To evaluate the cytotoxicity of matrix carriers, the MTT assay was used and intra-vital staining of cells with the fluorescent dye Hoechst 33342 (Sigma Aldrich, USA).

Staining with Hoechst 33342 identified nuclei of labeled cells which confirmed the cytocompatibility and capacity of human BM-MSCs for adhesion on carriers and their supernatants at direct contact (**Fig. 1**).

Figure 1 shows the presence of flat cylindrical non-condensed nuclei of BM-MSCs and their formation of a homogeneous monolayer of living cells when cultured with carriers: red arrows show the adhesive capacity of the latter for cells.

The results of experiments on the cytotoxicity of carrier matrices and their supernatants in direct contact with BM-MSCs are presented in **Table 2**.

When assessing acute cytotoxicity after 24 hours of cultivation, the cell viability ranged from 82.76% to 100%. Cytotoxicity was found to be absent in the supernatants of "Lyostypt" and "LBM" carriers at all times of monitoring as compared to the control specimen. The matrix carriers demonstrated a similar effect on BM-MSCs. All four observed carriers had minor cytotoxicity that brought about the death of not more than 30% cells (low toxicity). Only the cultivation of BM-MSCs with "Lyostypt" showed the greatest viability of cells at direct contact after 24 hours and 7 days, and even a moderate proliferation of cells with its supernatant.

Proliferative activity of human BM-MSC on bioorganic carriers

BM-MSCs are prospective candidates for regenerative medicine in repairing bone defects. However, the introduction of BM-MSC to the osseous lesion does not always perform well due to cell migration with blood or tissue fluid or due to introduction of an insufficient amount of cells. Therefore, the use of bioorganic matrix carriers in the composition of a hybrid cell-tissue graft, capable of

Specimens	Supernatant (% of living cells)		Matrix carrier (% of living cells)	
	1 day	7 days	1 day	7 days
Colapan	82,76 $\pm$ 22,35	89,03 $\pm$ 15,69	87,56 $\pm$ 32,56	93,35 $\pm$ 1,56
Osteomatrix	84,25 $\pm$ 10,14	91,31 $\pm$ 13,08	88,83 $\pm$ 9,89	92,32 $\pm$ 10,58
Lyostypt	101,72 $\pm$ 4,86	124,52 $\pm$ 7,30	88,63 $\pm$ 8,47	96,55 $\pm$ 10,91
LBM	101,44 $\pm$ 12,14	80,74 $\pm$ 3,35	87,90 $\pm$ 0,55	90,85 $\pm$ 9,14

Table 2. Viability of BM-MSCs during cultivation in vitro with the carriers and their supernatants in direct contact. Data are expressed as $M \pm SEM$

Таблица 2. Жизнеспособность КМ-МСК человека при культивировании in vitro с носителями и их супернатантами при прямом контакте. Данные представлены как $M \pm SEM$

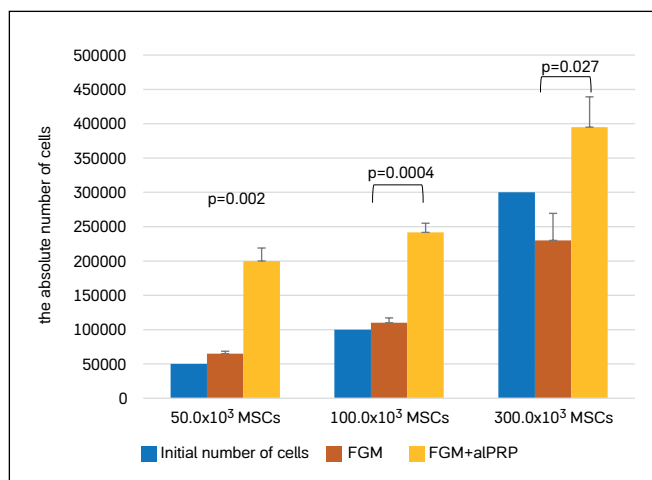


Figure 2. Proliferative activity of different concentrations of BM-MSCs on the "Lyostypt" bioorganic carrier over a period of 7-d cultivation in vitro.

Рисунок 2. Пролиферативная активность различных концентраций КМ-МСК на биоорганическом носителе «Лиостипт» в течение 7 суток культивирования in vitro.

being populated by cells and performing the function of a framework to facilitate the plastic closure of a defect, is an urgent task of tissue engineering [40]. The results of the assessment of the proliferative activity of human BM-MSC with the selection of their optimal concentration for populating the bioorganic matrix "Lyostypt" as the carrier with the lowest cytotoxicity are shown in **Figure 2**.

During the cultivation of the human BM-MSCs in the FGM (Fig. 2) without alPRP, by day 7, minor proliferation of cells was observed when 50.0x10³ and 100.0x10³ cells were introduced ($p \geq 0.05$), and a decrease in the initial amount of cells was seen in the higher introductory dose of 300.0x10³ cells ($p \leq 0.05$). With 5% alPRP added to the FGM, significant increase of proliferative activity of the cells was identified. The number of BM-MSC increased by 3.3 times ($p = 0.02$), by 2.6 times ($p = 0.0004$) and by 1.3 times ($p = 0.026$) versus initial seeding concentration of 50.0x10³, 100.0x10³ and 300.0x10³ cells per cm², respectively. The viability of BM-MSC was high in all samples and amounted to 99% in four series of the experiment. Thus, the increase in the proliferative activity of BM-MSC on the carrier was due to the presence of growth factors contained in alPRP.

Osteogenic differentiation of human BM-MSC

BM-MSCs have a significant potential for regenerative medicine, e.g. for patients with post-traumatic or post-surgery bone damage. BM-MSCs are capable of replacing the damaged cells, differentiate and synthesize the extracellular bone matrix in the lesion area. They may also indirectly contribute to tissue regeneration by secreting growth factors [40]. The studies of L. Meesuk *et al.* (2022) [42] showed that osteogenic differentiated BM-MSCs may produce more osteogenic factors than non-differentiated cells. This approach will be more efficient in repairing the bone defects.

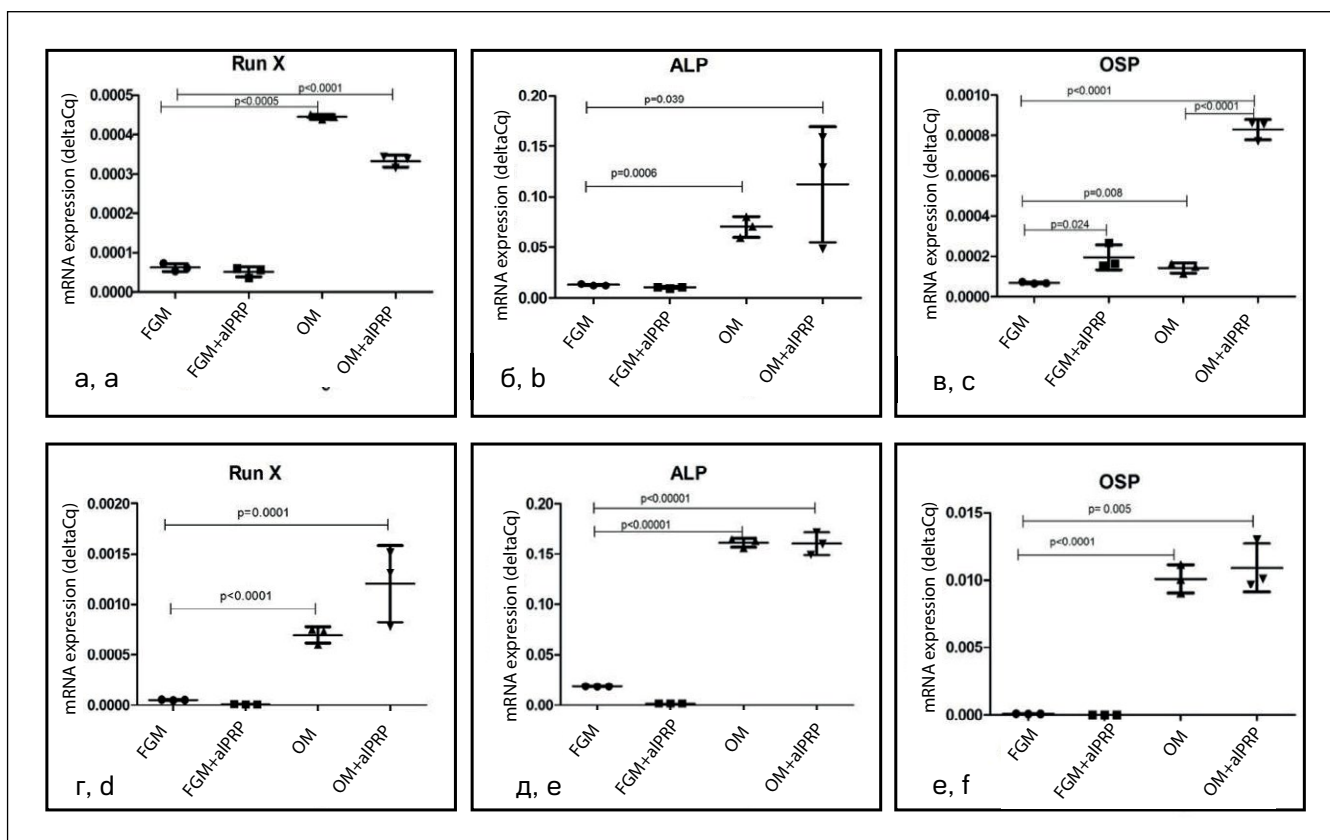


Figure 3. mRNA expression of osteogenic genes: (a, d) RunX, (b, e) ALP, (c, f) OSP after 4 (top row) and 7 (bottom row) days of cultivation BM-MSCs. Data are expressed as $M \pm SEM$.

Рисунок 3. Экспрессия мРНК остеогенных генов: (а, д) RunX, (б, е) ALP, (в, е) OSP после 4 (верхний ряд) и 7 (нижний ряд) суток культивирования КМ-МСК. Данные представлены как $M \pm SEM$.

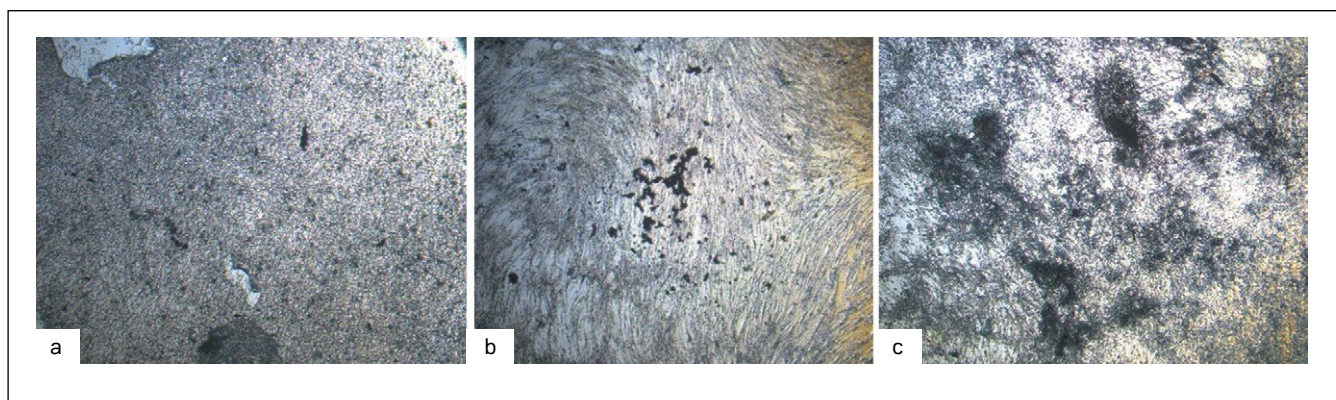


Figure 4. Von Kossa staining of BM-MSCs: (a) cells cultivated in CCM; (b) cells cultivated in OM; (c) cells cultivated in OM, supplemented with 5% alPRP. Images are taken at 100x magnification.

Рисунок 4. Окрашивание фон Косса КМ-МСК человека: (a) клетки, культивированные в ППС; (b) – клетки, культивированные в ОС; (c) – клетки, культивированные в ОС с добавлением 5% алПОРФТ. Изображения сделаны при 100-кратном увеличении.

In the *in vitro* experiments, the osteogenic potential of the cells was evaluated by the expression of molecular genetic markers (mRNA of osteogenic genes RUNX2, ALP, OSP) by RT-PCR in real time and Von Kossa staining of the cell monolayer with subsequent identification of calcium ossificates in the latter. The results of RT-PCR analysis of the expression of mRNA of osteogenic genes (RunX, ALP, OSP) are shown in **Fig. 3**.

After 4 days of BM-MSC cultivation in the OM, an increase in the expression of marker genes by osteogenic-induced cells was identified. The synthesis of mRNA of the RunX gene (**Fig. 3a**), ALP (**Fig. 3b**) and OSP (**Fig. 3c**) increased by 7.1 times ($p = 0.001$), 5.5 times ($p = 0.001$) and 2.1 times ($p = 0.008$) respectively versus non-differentiated BM-MSC cultivated in the FGM. The addition of 5% alPRP to the OM during the differentiation of BM-MSC increased the expression of the OSP gene by 12.0 times ($p = 0.0001$) versus non-differentiated cells cultivated in the FGM, and by 5.9 times ($p < 0.0001$) versus osteogenic-induced cells cultivated in the OM without alPRP. The presented differences are statistically significant.

After 7 of cultivation in the OM, the cells continued increasing the expression of the RunX (**Fig. 3d**), ALP (**Fig. 3e**) and OSP genes (**Fig. 3f**). Statistically valid

results were obtained as to the growth of expression of the following genes: ALP – growth by 8.67 times ($p < 0.0001$) and OSP – by 22.9 times ($p < 0.0001$), respectively, versus non-differentiated BM-MSC cultivated in the FGM. The differences are statistically significant. At the same time, addition of 5% alPRP to the OM during differentiation of BM-MSC at this time did not result in a credible increase of gene expression in comparison with osteogenic-induced BM-MSC cultivated in the OM without alPRP. The synthesis of mRNA of the genes remained on a comparable level ($p \geq 0.05$).

Thus, cultivation in the OM credibly fosters an increased expression of RunX genes by the cells, and, respectively, osteogenic differentiation of BM-MSC. The addition of alPRP to the OM credibly strengthens expression of genes and osteogenic differentiation of human BM-MSC in the initial stage (up to day 7 of cultivation).

In the period from the 4th to the 7th day of cultivation in the OM (including addition of alPRP), there occurs re-differentiation of BM-MSC. In this period, the cells start expressing osteogenic markers, yet no calcium deposition starts in them. After 21 days of osteogenic differentiation, it was shown that the morphology of BM-MSC changed from spindle to cuboid. After Von Kossa's staining of the specimens of differentiated cells with nitrate of silver, additionally, intracellular deposits of calcium phosphate were found (stained black). The changes were most manifested in the cells cultivated in the OM with 5% alPRP added (**Fig. 4**).

***In vitro* modeling of the hybrid cell-tissue graft**

The results of *in-vitro* co-cultivation of the components of the hybrid cell-tissue graft under the conditions of the required microenvironment (bone tissue) are shown in **Figure 5**.

After the incubation of all the graft components *in vitro*, at the end of the first week a close contact of the allogeneic spongiosa and "Lyostypt" matrix carrier were seen, as well as formation of a gel-like microenvironment (blue arrow), represented by the alPRP elements. At the end of the third week, all components of the graft were seen in the dense gel-like medium and close interaction of fragments of the allogeneic spongiosa with the matrix carrier by the formed monolayer of cells in the form of the BM-MSC band (red arrow).

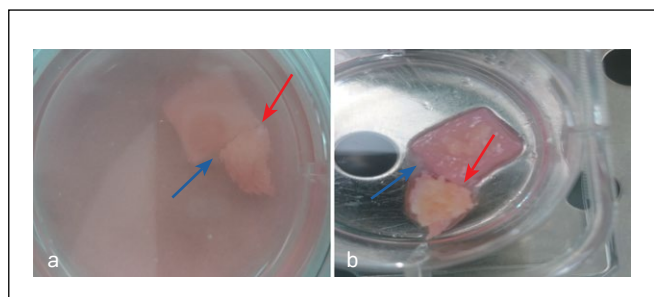


Figure 5. Co-cultivation of graft components *in vitro*: (a) one week, (b) three weeks. Image taken at 50x magnification.

Рисунок 5. Совместное культивирование компонентов трансплантата *in vitro*: (a) 1 неделя, (b) 3 неделя. Изображения сделаны при 50-кратном увеличении.

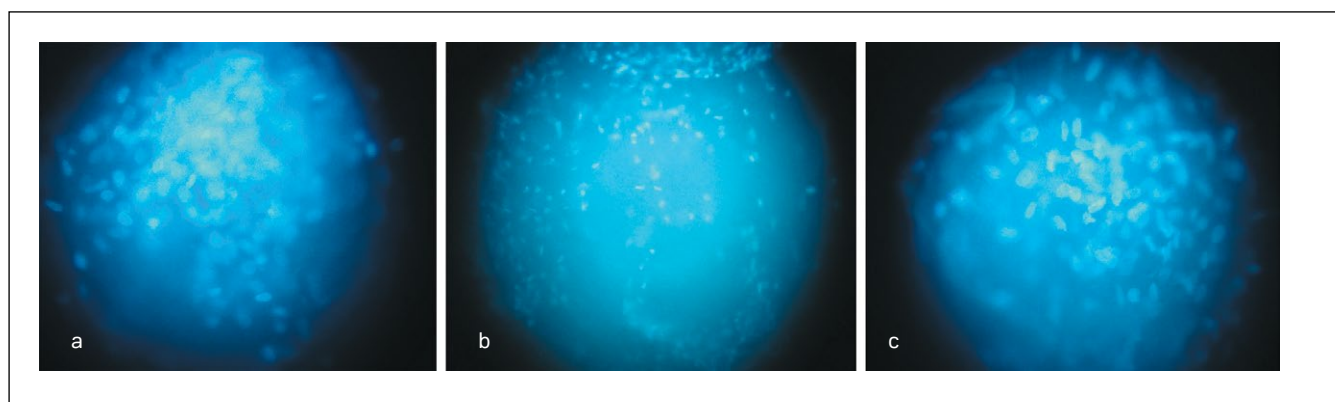


Figure 6. Live labeling of Hoechst 33342 of osteogenically predifferentiated BM-MSCs in vitro graft modeling: (a) one week, (b) two weeks, (c) three weeks. Images are taken at 100x magnification.

Рисунок 6. Прижизненное окрашивание красителем Hoechst 33342 остеогенно-предифференцированных КМ-МСК при моделировании трансплантата *in vitro*. Изображения сделаны при 100-кратном увеличении: а) одна неделя, б) две недели, в) три недели.

Specimen	Week 1(x thousand cells)	Week 2 (x thousand cells)	Week 3 (x thousand cells)
Hybrid graft	557,5 ± 24,75	530,0 ± 49,50	380,0 ± 7,07

Table 3. Proliferative activity of osteogenically predifferentiated BM-MSCs in graft *in vitro*

Таблица 3. Пролиферативная активность остеогенно предифференцированных КМ-МСК в составе трансплантата *in vitro*

In the next stage, the absolute quantity of the osteogenic pre-differentiated BM-MSC were identified in the composition of the hybrid graft in the end of the first, second and third weeks of *in vitro* incubation (**Table 3**).

It is seen from the results presented in the table that during the first two weeks of incubation, no significant decrease in osteogenic pre-differentiated BM-MSC in the graft was observed. As the cultivation period increased to three weeks, the number of cells decreased in relation to the initially seeded number due to the dense distribution of the latter between the collagen fibers of the matrix carrier. Some of the cells migrated into the allogeneic spongiosa and formed a dense monolayer between the bone and the carrier.

Staining with the fluorescent dye Hoechst 33342 showed a uniform population of the biopolymer collagen sponge with osteogenic pre-differentiated BM-MSC and high viability of the cells between the collagen fibers of the matrix carrier in all stages of cultivation (**Fig. 6**).

Moving on to the discussion of the results, it is worth noting that allogeneic bone implants are a common and effective approach to replacing bone defects. New methods of tissue engineering and cell technologies can give this area a second wind and find application in replacing long-term non-healing bone defects, when cell-free osteoinductive implants or MSC without matrix carriers cannot be effective [19, 43]. In such situations, tissue engineering using bioorganic matrix carriers, or scaffolds, osteogenic cells and factors that

promote regeneration and vascularization of transplants is of practical interest for the treatment of injuries or replacement of bone defects [19, 44]. BM-MSC are used for hybrid cell-tissue grafts more often than other cells since they are better characterized, readily available, and demonstrate a prolific osteogenic potential. At the same time, the clinical efficacy of such a graft depends significantly on the number of cells seeded onto the carrier, or scaffold, on biocompatibility of the latter, and other factors [43–45].

In bone tissue regenerative medicine, various bioorganic carriers are used, therefore the viability, adhesion and proliferation of BM-MSC on the matrix will depend on the chemical nature and structure of the latter [11, 46]. In this research, we studied the cytotoxicity of four commercially available bioorganic carriers based on collagen (“Lyostypt”), гидроксиапатита/collagen (“Collapan”), bone matrix with sGAGs (“Osteomatrix”), and lyophilized bone matrix (“LBM”), analyzing the viability of BM-MSC in their joint cultivation. All four studied matrix carriers had low cytotoxicity, causing the death of no more than 30% of cells. However, the “Lyostypt” collagen sponge showed the lowest cytotoxicity and the highest biocompatibility with human BM-MSC, which created optimal conditions for cell proliferation on the matrix. Therefore, we used “Lyostypt” as the basis (matrix) to produce the hybrid cell-tissue osteoconductive graft consisting of the carrier for the cells, osteogenic pre-differentiated BM-MSC and alPRP factors with subsequent evaluation of proliferative activity and osteogenic differentiation of the cells. In their experiment, J. Zheng et al. (2022) also demonstrated that cultivation of human MSCs on a collagen sponge with hydrogel fostered their proliferation and strengthened their chondrogenic differentiation by means of formation of the alternative extracellular microenvironment [47].

Scientific data indicate conflicting results of the influence of soluble individual factors (lysates and relysates of platelets) and platelet-rich plasma on human MSC differentiation. Thus, the use of plasma enriched with platelet factors showed a positive effect on the saturation of matrices (β-tricalcium phosphate, calcium-deficient hydroxyapatite) of MSC and on the proliferation of MSC in these matrices, but had little effect on the osteogenic potential of MSC [48].

Thus, a characteristic feature of modern tissue engineering and regenerative medicine is the combination of matrices with various biologically active components and their

saturation with cells, mainly MSC, with subsequent targeted differentiation of the latter. Earlier research [49, 50] and this study showed that platelet derivatives (lysates and relaysates of platelets, alPRP) are effective components for stimulating the expansion and osteogenic differentiation of BM-MSCs in vitro. This approach allows obtaining a sufficient number of cells to create a hybrid cell-tissue graft with its subsequent use to replace bone defects. Moreover, the composition of the structure in the version of a bioorganic matrix carrier based on collagen, osteogenic predifferentiated BM-MSC and alPRP factors is optimal for potential clinical application.

CONCLUSIONS

1. The bioorganic matrices studied for biocompatibility with the human BM-MSC culture showed low in vitro toxicity towards cells (no more than 30%). With duration of BM-MSC cultivation with biomaterials increased to 7 days, the cells preserved high viability and increased

their proliferative activity. The lowest cytotoxicity and the best biocompatibility was seen in the carrier from resorbable biopolymer collagen sponge.

2. The biological and structural characteristics of the collagen matrix carrier reliably promoted the adhesion of BM-MSC, their uniform distribution and proliferation.

3. The alPRP used as the source of soluble factors made an impact on the osteogenic differentiation of the human BM-MSC: addition of 5% alPRP to the osteogenic medium sped up the mineralization process (deposition of calcium salts in the cell matrix) and expression of genes of osteogenic differentiation (RUNX2, ALP and OSP).

4. The hybrid cell-tissue graft is characterized with safety, efficiency and biocompatibility with bone tissue making it suitable for clinical use in regenerative medicine when replacing the bone defects. ■

ADDITIONAL INFORMATION	ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ
Compliance with ethical standards. Informed consent was obtained from the study participants in accordance with the decision of the Ethics Committee of the Republican Scientific and Practical Center for Traumatology and Orthopedics of the Ministry of Health of the Republic of Belarus (protocol No. 3 dated 04/14/2021).	Соблюдение этических норм. От участников исследования получено информированное согласие по решению этического комитета Республиканского научно-практического центра травматологии и ортопедии Министерства здравоохранения Республики Беларусь (протокол №3 от 14.04.2021 г.).
Study funding. This research received no external funding.	Источник финансирования. Исследование проводилось без спонсорской поддержки
Conflict of interest. The authors declare that there are no obvious or potential conflicts of interest associated with the content of this article.	Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием настоящей статьи.
Contribution of individual authors. N.N. Danilkovich – investigation, writing-original draft preparation. S.M. Kosmacheva – conceptualization, methodology and study design; A.G. Ionova – investigation, data curation; K.A. Krivorot – investigation, data curation. A.N. Mazurenko – data analysis, visualization. D.G. Alekseev – article review and editing. All authors gave their final approval of the manuscript for submission, and agreed to be accountable for all aspects of the work, implying proper study and resolution of issues related to the accuracy or integrity of any part of the work.	Участие авторов. Н.Н. Данилкович – проведение исследования, подготовка рукописи. С.М. Космачева – концепция методологии и дизайн исследования. А.Г. Ионова – проведение исследования, сбор данных. К.А. Криворот – проведение исследования, сбор данных. А.Н. Мазуренко – обработка данных, визуализация. Д.Г. Алексеев – редактирование рукописи. Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.

REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА

- Kosmacheva SM, Danilkovich NN, Shchepen AV, et al. Effect of platelet release on osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells. *Bull Exp Biol Med.* 2014;156(4):560-5.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s10517-014-2396-1>
- Deev RV, Isaev AA, Kochish AY, Tikhilov RM. Pathways for the development of cell technologies in bone surgery. *Traumatology and orthopedics in Russia.* 2008;47(1):65-75. (In Russ.). [Деев Р.В., Исаев А.А., Кочиш А.Ю., Тихилов Р.М. Пути развития клеточных технологий в

костной хирургии. *Травматология и ортопедия в России.* 2008;47(1):65-75].

URL: <file:///C:/Users/Persona/Downloads/puti-razvitiya-kletochnyh-tehnologiy-v-kostnoy-hirurgii.pdf>

- Szpalski C, Sagebin F, Barbaro M, Warren SM. The influence of environmental factors on bone tissue engineering. *Tissue Engineering Part B.* 2012;18(4):258-269.

DOI: <https://doi.org/10.1002/jbm.b.32849>

- Wang W, Yeung KW. Bone graft substitutes for bone defect repair: a review. *Bioactive Materials.* 2017;2:224-247.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2017.05.007>

5. Polo-Corrales L, Latorre-Esteves M, Ramirez-Vick J. Scaffold design for bone regeneration. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 2014;14(1):15-56.

DOI: <https://doi.org/10.1166/jnn.2014.9127>

6. Makarevich S, Mazurenko A, Krivorot K, et al. The use of autologous mesenchymal stem cells for the purpose of spinal fusion. *Science and innovation*. 2019;11:79-84. (In Russ.). [Макаревич С., Мазуренко А., Криворот К. Применение аутологичных мезенхимальных стволовых клеток с целью спондилодеза. *Наука и инновации*. 2019;11:79-84].

DOI: <https://doi.org/10.29235/1818-9857-2019-11-79-84>

7. Lagenbach F, Handschel J. Effects of dexamethasone, ascorbic acid and β -glycerophosphate on the osteogenic differentiation of stem cells in vitro. *Stem Cell Res Therapy*. 2013;4(5):117.

DOI: <https://doi.org/10.1186/scrt328>

8. Hutchings G, Moncrieff L, Dompe C, et al. Bone regeneration, reconstruction and use of osteogenic cells; from basic knowledge, animal models to clinical trials. *J Clin Med*. 2020;9(1):139.

DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm9010139>

9. Steinert AF, Rackwitz L, Gilbert F, et al. The clinical application of mesenchymal stem cells for musculoskeletal regeneration: current status and perspectives. *Stem Cells Trans Med*. 2012;1(3):237-247.

DOI: <https://doi.org/10.5966/sctm.2011-0036>

10. Correia C, Grayson WL, Park M, et al. In vitro model of vascularized bone: synergizing vascular development and osteogenesis. *PLOS One*. 2011;6(12):e28352.

DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028352>

11. Filippi M, Born G, Chaaban M, Scherberich A. Natural polymeric scaffolds in bone regeneration. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2020;8:1-28.

DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00474>

12. Ripamonti, U. Induction of bone formation by recombinant human osteogenic protein-1 and sintered porous hydroxyapatite in adult primate. *Plastic & Reconstructive Surgery*. 2001;107:977-988.

DOI: <https://doi.org/10.1097/00006534-200104010-00012>

13. Zhukova Y, Hiepen Ch, Knaus P, et al. The role of titanium surface nanostructuring on preosteoblast morphology, adhesion, and migration. *Advanced Healthcare Materials*. 2017;6(15):1-13.

DOI: <https://doi.org/10.1002/adhm.201601244>

14. Garg T, Singh O, Arora S, Murthy R. Scaffold: a novel carrier for cell and drug delivery. *Critical Review in Therapeutic Drug Carrier Systems*. 2012;29(1):1-63.

DOI: <https://doi.org/10.1615/CritRevTherDrugCarrierSyst.v29.i1.10>

15. Seeherman H, Wozney J, Lee R. Bone morphogenetic protein delivery systems. *Spine*. 2002;27:16-23.

DOI: <https://doi.org/10.1097/00007632-200208151-00005>

16. Polo-Corrales L, Latorre-Esteves M, Ramirez-Vick J. Scaffold design for bone regeneration. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 2014;14(1):15-56.

DOI: <https://doi.org/10.1166/jnn.2014.9127>

17. Oliveira JF, Aguiar PF, Rossi AM, Soares GA. Effect of process parameters on the characteristics of porous calcium phosphate ceramics for bone tissue scaffolds. *Artificial Organs*. 2003;27:406-411.

DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1525-1594.2003.07247.x>

18. Kruyt MC, Gaalen SM, Oner FC, et al. Bone tissue engineering and spinal fusion: the potential of hybrid constructs by combining osteoprogenitor cells and scaffolds. *Biomaterials*. 2004;25:1463-1473.

DOI: [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(03\)00490-3](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(03)00490-3)

19. Neman J, Hambrecht A, Cadry C, Jandal R. Stem cell-mediated osteogenesis: therapeutic potential for bone tissue engineering. *Biologics: Targets and Therapy*. 2012;6:47-57.

DOI: <https://doi.org/10.2147/BTT.S22407>

20. Kitoh H, Kitakoji T, Tsuchiya H, et al. Transplantation of culture expanded bone marrow cells and platelet rich plasma in distraction osteogenesis of the long bones. *Bone*. 2007;40(2):522-528.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bone.2006.09.019>

21. Tsiklin LI, Pugachev EI, Kolsanov AV, et al. Biopolymer material from human spongiosa for regenerative medicine application. *Polymers*. 2022;14(5):941-953.

DOI: <https://doi.org/10.3390/polym14050941>

22. Kim HN, Jiao A, Hwang AS, et al. Nanotopography-guided tissue engineering and regenerative medicine. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2013;65:536-558.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.07.014>

23. Thuraiajah K, Broadhead LM, Balogh ZJ. Trauma and stem cells: biology and potential therapeutic Implications. *International Journal of Molecular Science*. 2017;18:577-595.

DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms18030577>

24. Armiento AR, Hatt PhL, Rosenberg GS, et al. Functional biomaterials for bone regeneration: a lesson in complex biology. *Advanced Functional Materials*. 2020;30(44):1-41.

DOI: <https://doi.org/10.1002/adfm.201909874>

25. Paladini F, Pollini M. Novel approaches and biomaterials for bone tissue engineering: a focus on silk fibroin. *Materials*. 2022;15(19):1-22.

DOI: <https://doi.org/10.3390/ma15196952>

26. Potapnev MP, Arabey AA, Kondratenko GG, et al. A soluble platelet-derived growth factors and regenerative medicine. *Healthcare*. 2014;9:32-40. (In Russ.). [Потапнев М.П., Арабей А.А., Кондратенко Г.Г., и др. Растворимые факторы тромбоцитов и регенеративная медицина. *Здравоохранение*. 2014;9:32-40].

27. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, et al. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Oral Endod*. 1998;85 (6):538-46.

DOI: [https://doi.org/10.1016/S1079-2104\(98\)90029-4](https://doi.org/10.1016/S1079-2104(98)90029-4)

28. Laquinta MR, Mazzoni E, Manfrini M, et al. Innovative biomaterials for bone regrowth. *Int J Mol Sci*. 2019;20(3):618.

DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20030618>

29. Kotelnikov GP, Kolsanov AV, Volova LT, et al. Technology of manufacturing of personalized reconstructive allogenic bone graft. *Pirogov Russian Journal of Surgery*. 2019;3:65-72. [Котельников Г.П., Колсанов А.В., Волова Л.Т., и др. Технология производства персонализированного реконструктивного аллогенного костного имплантата. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2019;(3):65-72].

DOI: <https://doi.org/10.17116/hirurgia201903165>

30. Tsiklin IL, Shabunin AV, Kolsanov AV, Volova LT. In Vivo Bone Tissue Engineering Strategies: Advances and Prospects. *Polymers*. 2022;14(15):3222.

DOI: <https://doi.org/10.3390/polym14153222>

31. World Health Organization. Blood Transfusion Safety Team. (2001). The Clinical use of blood: handbook.

Available online: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42396> (accessed on 25 August 2023).

32. Pierce J, Benedetti E, Preslar A, et al. Comparative analyses of industrial-scale human platelet lysate preparations. *Transfusion*. 2017;57(12):2858-2869.

DOI: <https://doi.org/10.1111/trf.14324>

33. Shakhbazov AV, Goncharova NV, Kosmacheva SM, et al. Plasticity of human mesenchymal stem cell phenotype and expression profile under neurogenic conditions. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine (Cell Technologies in Biology and Medicine)*. 2009;147(4):513-516.

DOI: <https://doi.org/10.1007/s10517-009-0547-6>

34. Chen X, Huang J, Wu J. Human mesenchymal stem cells. *Cell Proliferation*. 2022;55:1-11.

DOI: <https://doi.org/10.1111/cpr.13141>

35. Schendzielorz P, Froelich K, Rak K, et al. Labeling adipose-derived stem cells with Hoechst 33342: usability and effects on differentiation potential and DNA damage. *Stem Cells Int.* 2016;2016:6549347.
DOI: <https://doi.org/10.1155/2016/6549347>
36. Danilkovich NN, Derkachov VS, Kosmacheva SM, Potapnev MP. Application of bone-marrow mesenchymal stem cells and platelet-derived growth factors for human osteogenic graft engineering. 5th International conference on Tissue engineering and Regenerative Medicine, Berlin, Germany, 12-14 September, 2016:155.
DOI: <https://doi.org/10.4172/2157-7552.C1.025>
37. Santos VH, Hubbe Pfeifer JP, Souza BJ, et al. Culture of mesenchymal stem cells derived from equine synovial membrane in alginate hydrogel microcapsules. *BMS Veterinary Research.* 2018;14(1):1-10.
DOI: <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1425-0>
38. Chevallier N, Anagnostou F, Zilber S, et al. Osteoblastic differentiation of human mesenchymal stem cells with platelet lysate. *Biomaterials.* 2010;31:270-278.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.09.043>
39. Kuvyrkov EV, Severin IN, Belyasova NA. Osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells. *News of the National Academy of Sciences of Belarus.* 2015;2:89-91. [Кувырков Е.В., Северин И.Н., Белясова Н.А. Остеогенная дифференцировка мезенхимальных стволовых клеток костного мозга человека. *Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі.* 2015;2:89-91].
URL: <file:///C:/Users/Persona/Downloads/255-253-1-PB.pdf>
40. Szustak M, Gendaszewska-Darmach E. Extracellular nucleotides selectively induce migration of chondrocytes and expression of type II Collagen. *Int J Mol Sci.* 2020;21(15):5227.
DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21155227>
41. Zhang D, Yi C, Qi S, Yao X, Yang. M. Effects of Carbon Nanotubes on the Proliferation and Differentiation of Primary Osteoblasts. *Methods in Molecular Biology.* 2010;625:41-53.
DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-60761-579-8_5
42. Meesuk L, Suwanprateeb J, Thammarakcharoen F, et al. Osteogenic differentiation and proliferation potentials of human bone marrow and umbilical cord-derived mesenchymal stem cells on the 3D-printed hydroxyapatite scaffolds. *Scientific Reports.* 2022;12:1-19.
DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-24160-2>
43. Janicki P, Boeuf S, Steck E, et al. Prediction of in vivo bone forming potency of bone marrow-derived human mesenchymal stem cells. *European Cells and Materials.* 2011;21:488-507.
DOI: <https://doi.org/10.22203/ecm.v021a37>
44. Yoon Y, Khan IU, Choi KU, et al. Different bone healing effects of undifferentiated and osteogenic differentiated mesenchymal stromal cell sheets in canine radial fracture model. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine.* 2018;15(1):115-124.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s13770-017-0092-8>
45. Kuk M, Kim Y, Lee SH, et al. Osteogenic ability of canine adipose-derived mesenchymal stromal cell sheets in relation to culture time. *Cell Transplantation.* 2015;25(7):1415-1422.
DOI: <https://doi.org/10.3727/096368915X689532>
46. Szpalski C, Barbaro M, Sagebin F, Warren SM. Bone Tissue Engineering: Current Strategies and Techniques – Part II: Cell Types. *Tissue Engineering Part B: Reviews.* 2012;14(4):258-269.
DOI: <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2011.0440>
47. Zheng J, Xie Y, Yoshitomi T, et al. Stepwise Proliferation and Chondrogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells in Collagen Sponges under different Microenvironments. *International Journal of Molecular Science.* 2022;23(12):6406.
DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms23126406>
48. Kasten P, Vogel J, Beyen I, et al. Effect of plate-let-rich plasma on the in vitro proliferation and osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells on distinct calcium phosphate scaffolds: the specific surface area makes a difference. *Journal of Biomaterials Applications.* 2008;23(2):169-188.
DOI: <https://doi.org/10.1177/0885328207088269>
49. Kocaoemer A, Kern S, Kluter H, Bieback K. Human AB serum and thrombin-activated platelet-rich plasma are suitable alternatives to fetal calf serum for the expansion of mesenchymal stem cells from adipose tissue. *Stem Cells.* 2007;25:1270-1278.
DOI: <https://doi.org/10.1634/stemcells.2006-0627>
50. Borzini P, Mazzucco L. Tissue regeneration and in loco administration of platelet derivatives: clinical outcome, heterogeneous products, and heterogeneity of the effector mechanisms. *Transfusion.* 2005;45:1759-1767.
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2005.00600.x>

Оригинальное исследование | Original study article
DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM635050>

© This work is licensed under CC BY 4.0
© Authors, 2024

Изменения качества жизни при социальной изоляции у пожилых пациентов с нарушением зрения

Н.М. Агарков^{1,2}, Н.В. Попова²

¹ФГБОУ ВО «Юго-Западный государственный университет» Минобрнауки России
(Курск, Российская Федерация)

²ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Минздрава России,
Тамбовский филиал (Тамбов, Российская Федерация)

Аннотация

Цель – определение характера изменения качества жизни у пожилых пациентов с нарушением зрения при социальной изоляции и связанных с ней факторов риска.

Материал и методы. Была сформирована клиническая группа из 115 участников 60–74 лет с нарушением зрения, находящихся в условиях социальной изоляции в течение месяца. В соответствии с Хельсинкской декларацией социальная изоляция была определена на основе 15-балльной шкалы, опросник качества жизни использовался для измерения изменений в качестве жизни. Факторы риска включали социально-демографические, клинические категории и показатели функционального состояния.

Результаты. Результаты линейных смешанных моделей со случайными пересечениями, сравнивающих показатели качества жизни до (3,30) и после социальной изоляции (1,78), были значимыми ($p < 0,001$). Во время социальной изоляции у 87% участников с нарушением зрения наблюдалось снижение качества жизни (-2,39), тогда как у 13% участников наблюдалось повышение качества жизни (0,58). С социальной изоляцией

были связаны следующие факторы риска: низкий уровень доходов (38%, $p < 0,001$), отсутствие высшего образования (29%, $p = 0,002$), заболевание легких (25%, $p = 0,04$), функциональные или сенсорные нарушения, включающие трудности с приготовлением пищи (28%, $p = 0,004$), трудности с прохождением одного квартала (26%, $p = 0,03$), нарушение слуха (23%, $p = 0,02$) и нарушение зрения (24%, $p = 0,01$). Незначимыми оказались пол ($p = 0,39$), текущая боль ($p = 0,75$), трудности с повседневными действиями ($p = 0,09$), недержание мочи ($p = 0,82$), сахарный диабет ($p = 0,87$) и когнитивные нарушения ($p = 0,06$).

Заключение. Период социальной изоляции привел к весьма значительному снижению общего качества жизни в выборке пожилых людей с нарушением зрения. Ведущими факторами риска социальной изоляции оказались низкий уровень доходов и отсутствие высшего образования.

Ключевые слова: социальная изоляция, нарушение зрения, пожилые, качество жизни, факторы риска

Конфликт интересов: не заявлен.

Для цитирования

Агарков Н.М., Попова Н.В. Изменения качества жизни при социальной изоляции у пожилых пациентов с нарушением зрения. Наука и инновации в медицине. 2024;9(4):268-271.
DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM635050>

Сведения об авторах

Агарков Н.М. – д-р мед. наук, профессор кафедры биомедицинской инженерии.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4821-3692>
E-mail: vitalaxen@mail.ru

Попова Н.В. – врач-офтальмолог отделения лазерной хирургии.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0202-7795>
E-mail: mntk@mntk-tambov.ru

Автор для переписки

Агарков Николай Михайлович
Адрес: ул. 50 лет Октября, 94, г. Курск, Россия, 305040.
E-mail: vitalaxen@mail.ru

Получено: 09.08.2024

Одобрено: 22.10.2024

Опубликовано: 26.11.2024

Changes in quality of life during social isolation in elderly patients with visual impairment

Nikolai M. Agarkov^{1,2}, Natalya V. Popova²

¹Southwest State University (Kursk, Russian Federation)

²S.N. Fedorov National medical research center, Tambov (Tambov, Russian Federation)

Abstract

Aim – to determine the nature of changes in the quality of life in social isolation and risk factors associated with it in elderly patients with visual impairment.

Material and methods. A clinical group was formed of 115 participants with visual impairment aged 60–74 years who were in conditions of social isolation for a month. In accordance with the Helsinki Declaration, social isolation was determined on the basis of a 15-point scale, and a questionnaire on quality of life was used to measure changes in the quality of life. Risk factors included socio-demographic, clinical categories and indicators of functional status.

Results. The results of linear mixed models with random intersections comparing quality of life indicators before (3.30) and after social isolation (1.78) were significant ($p < 0.001$). During social isolation, 87% of participants with visual impairment experienced a decrease in quality of life (-2.39), while 13% of participants had an increase in quality of life (0.58). The following risk factors were associated with social isolation: low income (38%, $p < 0.001$), lack

of higher education (29%, $p = 0.002$), lung disease (25%, $p = 0.04$), functional or sensory disorders, including difficulties with cooking (28%, $p = 0.004$), difficulty in walking the distance of one block (26%, $p = 0.03$), hearing impairment (23%, $p = 0.02$) and visual impairment (24%, $p = 0.01$). Gender ($p = 0.39$), ongoing pain ($p = 0.75$), difficulties with daily activities ($p = 0.09$), urinary incontinence ($p = 0.82$), diabetes mellitus ($p = 0.87$) and cognitive impairment ($p = 0.06$) were insignificant.

Conclusion. The period of social isolation led to a very significant decrease in the overall quality of life in the sample of elderly people with visual impairment. The leading risk factors for social exclusion were low income and lack of higher education.

Keywords: social isolation, visual impairment, elderly, quality of life, risk factors.

Conflict of interest: nothing to disclose.

Citation

Agarkov N.M., Popova N.V. Changes in quality of life during social isolation in elderly patients with visual impairment. *Science and Innovations in Medicine*. 2024;9(4):268-271. DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM635050>

Information about authors

Nikolai M. Agarkov – PhD, Professor of the Department of Biomedical Engineering. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4821-3692> E-mail: vitalaxen@mail.ru

Natalya V. Popova – ophthalmologist Laser surgery department. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0202-7795> E-mail: mntk@mntk-tambov.ru

Corresponding author

Nikolai M. Agarkov
Address: 94, 50 let Oktyabrya st., Kursk, Russia, 305040. E-mail: vitalaxen@mail.ru

Received: 09.08.2023

Received: 22.10.2024

Published: 26.11.2024

ВВЕДЕНИЕ

В большинстве исследований негативных последствий социальной изоляции анализируются группы населения, испытывающие хроническую социальную изоляцию (более 4 недель), которая часто сочетается с другими событиями, меняющими жизнь. Обстоятельства, при которых люди вынуждены терпеть временные периоды социальной изоляции, могут быть связаны с госпитализацией, стихийными бедствиями, вспышками инфекционных заболеваний и т.д. Такие периоды, называемые ситуационной социальной изоляцией, включают относительное уменьшение взаимодействия между людьми, размера социальной сети, частоты контактов с другими людьми, участия в социальной деятельности и/или глубины социальных отношений [1].

Важность социальных связей, количества, качества и преимуществ человеческих взаимоотношений стала основным направлением исследований социальных детерминант здоровья, а социальная изоляция, представляющая как объективный, так и субъективный опыт социальной разобщенности, рассматривается в научной литературе как ключевой фактор, влияющий на здоровье человека [2]. Для физического и психического здоровья и долголетия пожилых людей исключение социальной изоляции особенно важно. Те люди, которые живут в изоляции, могут испытывать объективные трудности с доступом к источникам эмоциональной и финансовой поддержки, а также к помощи лиц, осуществляющих уход, для облегчения физического или психологического дискомфорта [3].

Хотя негативные последствия социальной изоляции проявляются у людей всех возрастов [4], многочисленные исследования показывают, что у пожилых людей они особенно выражены [1, 4, 5]. Негативное влияние социальной изоляции на качество жизни может быть опосредовано физическим здоровьем [6], а также эмоциональным благополучием [6, 7]. Кроме того, есть доказательства того, что негативные последствия социальной изоляции могут модулироваться социально-экономическим статусом, при этом лица с низким социально-экономическим статусом испытывают более серьезные неблагоприятные последствия [7]. Негативное влияние социальной изоляции на пожилых людей изучено достаточно основательно, но при этом о потенциальных последствиях социальной изоляции и ее влиянии на качество жизни пожилых людей с нарушением зрения известно мало [8–10], равно как и о потенциальных факторах риска, которые модулируют эти эффекты.

ЦЕЛЬ

Определение характера изменения качества жизни при социальной изоляции и факторов риска, связанных с ней, у пожилых пациентов с нарушением зрения.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для достижения целей исследования была сформирована клиническая группа из 115 (69 женщин, 46 мужчин) участников 60–74 лет с нарушением зрения, в течение месяца находящихся в условиях социальной изоляции.

Критериями включения являлись пожилой возраст, социальная изоляция, нарушение зрения, способность понимать письменную и устную речь, наличие письменного информированного согласия на участие в исследовании.

Критериями невключения были возраст младше 60 лет или старше 74 лет, отсутствие синдрома социальной изоляции и нарушения зрения.

Критериями исключения служили отказ от участия на любом этапе исследования, изменение места жительства, смерть пациента.

Социальная изоляция была определена на основе 15-балльной шкалы, измеряющей контакты в семье, взаимодействие в социальных сетях и вовлеченность сообщества. Опросник качества жизни QOLI использовался для измерения изменений в общем воспринимаемом качестве жизни, а также изменений в четырех факторах качества жизни: достижениях, самовыражении, взаимоотношениях и окружении, выявленных в более ранних исследованиях [11].

Социально-демографические факторы включали возраст, пол, образование и низкий уровень дохода. Клинические факторы включали хронические заболевания, о которых сообщали сами испытуемые (диабет, болезни сердца, легких, рак, гипертония и инсульт), случаи боли и недавние госпитализации. Показатели функционального состояния включали нарушения зрения, слуха, недержание

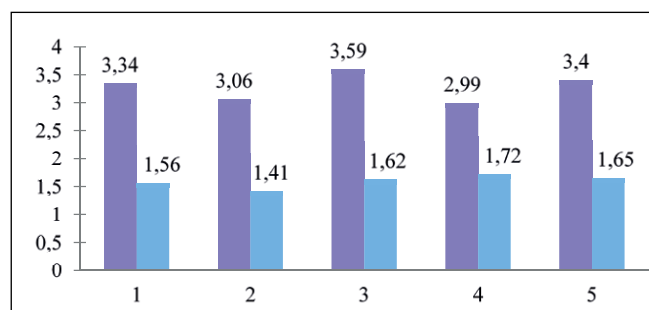


Рисунок 1. Величины факторов качества жизни до (фиолетовый) и после (голубой) периода социальной изоляции у пожилых пациентов с нарушением зрения (баллы). 1 – фактор достижений, 2 – фактор самовыражения, 3 – фактор взаимоотношений, 4 – фактор окружения, 5 – общий балл качества жизни. По оси абсцисс представлены анализируемые группы, по оси ординат – величины факторов по опроснику качества жизни QOLI.

Figure 1. The values of quality of life factors before (purple) and after (blue) the period of social isolation in elderly patients with visual impairment (points). 1 – achievement factor, 2 – self-expression factor, 3 – relationship factor, 4 – environment factor, 5 – overall quality of life score. The analyzed groups are represented along the abscissa axis, and the ordinate axis is the magnitude of the factors according to the QOLI quality of life questionnaire.

мочи, когнитивные нарушения, трудности с выполнением шести повседневных действий (купание, одевание, перемещение, туалет, прием пищи, ходьба по комнате), трудности с выполнением пяти инструментальных действий повседневной жизни (использование телефона, управление финансами, прием лекарств, покупка продуктов и приготовление горячих блюд), а также трудности с прохождением одного квартала.

Полученные результаты представлялись в виде среднеарифметических величин и экстенсивных показателей. Логистическая регрессия использовалась для определения скорректированной распространенности показателей по представляющим интерес подгруппам. Для оценки достоверности различий использовался критерий χ^2 , а различие принималось существенным при $p < 0,05$.

Исследование проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией. Все испытуемые дали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты логистических регрессионных моделей со случайными пересечениями, сравнивающих показатели качества жизни пожилых пациентов с нарушением зрения до (3,30) и после социальной изоляции (1,78), были значимыми ($p < 0,001$), указывая на снижение воспринимаемого качества жизни по сравнению с тестированием до и после изоляции. Серия из четырех дополнительных линейных смешанных моделей подтвердила, что вызванные изоляцией изменения в самооценке качества жизни, рассчитанные отдельно для показателей достижений, самовыражения, взаимоотношений и окружения, были статистически значимыми даже после учета возраста, пола и социально-экономического статуса (**рисунок 1**). Во время социальной изоляции у 87% пациентов пожилого возраста с нарушением зрения наблюдалось снижение качества жизни (-2,39), тогда как у 13% пациентов наблюдалось повышение качества жизни (0,58).

Были определены социально-демографические и клинические факторы риска, достоверно связанные с социальной изоляцией у пожилых пациентов с нарушением зрения (**таблица 1**). С изоляцией были связаны низкий уровень доходов (38%, $p < 0,001$), отсутствие высшего образования

(29%, $p = 0,002$), заболевание легких (25%, $p = 0,04$), функциональные или сенсорные нарушения, включающие трудности с приготовлением пищи (28%, $p = 0,004$), трудности с прохождением одного квартала (26%, $p = 0,03$), нарушение слуха (23%, $p = 0,02$) и нарушение зрения (24%, $p = 0,01$).

Несколько факторов не были связаны с изоляцией, включая пол ($p = 0,39$), текущую боль ($p = 0,75$), трудности с повседневными действиями ($p = 0,09$), недержание мочи ($p = 0,82$), сахарный диабет ($p = 0,87$) и когнитивные нарушения ($p = 0,06$).

ОБСУЖДЕНИЕ

В многочисленных лонгитюдных исследованиях было обнаружено, что социальная изоляция увеличивает риск развития ишемической болезни сердца и инсульта независимо от традиционных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний [10, 12, 13]. Метаанализ показал, что эти риски увеличены почти на треть [12]. Низкая социальная связь также была связана с более высоким использованием медицинских услуг и худшими прогнозами для пациентов с сердечными заболеваниями. Низкая социальная поддержка была связана с повышением частоты повторной госпитализации и смертности после инфаркта миокарда [14].

Согласно исследованиям, проводившимся более 40 лет, социальная изоляция была связана со значительно повышенным риском преждевременной смертности от всех причин. Избыточная смертность, обусловленная риском социальной изоляции, соперничает с воздействием физических факторов риска, таких как ожирение и курение [15]. J. Holt-Lunstad и соавт. (2010) [16] провели комплексный метаанализ 148 проспективных исследований, в которых измерялись как социальная изоляция, так и комбинированный, многогранный показатель социальной связи. Комплексные показатели структурных компонентов социальных связей, которые включали семейное положение, размер сети и участие в социальной сети, оказали наиболее сильное влияние по сравнению с одномерными показателями. За средний период наблюдения в 7,5 года у участников без прочных социальных связей вероятность смертности была на 50% выше [16].

Эти результаты согласуются с более ранними научными работами, показывающими, что хроническая социальная изоляция оказывает негативное воздействие на здоровье [5], а полученные в ходе исследования результаты дополняют эти выводы, демонстрируя, что даже относительно короткие периоды социальной изоляции могут иметь значительные последствия для пожилых людей. Недавние перекрестные исследования пандемии COVID-19 по всему миру показали, что это негативно повлияло на качество жизни и психическое здоровье [17], однако проведенное исследование уникально тем, что одна и та же группа участников была протестирована до, а затем сразу после месяца социальной изоляции. Это позволяет более обоснованно утверждать о взаимосвязи между обязательной социальной изоляцией и изменениями в воспринимаемом качестве жизни. В целом полученные данные указывают на то, что этот острый период социальной изоляции был связан со значительным снижением воспринимаемого качества жизни у большинства пожилых людей, включенных в выборку.

Фактор риска		Значение, %	p
Низкий уровень доходов	Да	77,3	<0,001
	Нет	22,7	
Отсутствие высшего образования	Да	60,9	=0,002
	Нет	39,1	
Трудности с приготовлением пищи	Да	56,8	=0,004
	Нет	43,2	
Трудности с прохождением одного квартала	Да	59,8	=0,03
	Нет	40,2	
Нарушение слуха	Да	62,1	=0,02
	Нет	37,9	
Нарушение зрения	Да	58,3	=0,01
	Нет	41,7	
Заболевание легких	Да	63,2	=0,04
	Нет	36,8	

Таблица 1. Распространенность социальной изоляции у пожилых пациентов с нарушением зрения

Table 1. Prevalence of social isolation in elderly patients with visual impairment

ВЫВОДЫ

Полученные результаты показывают, что период социальной изоляции привел к весьма значительному снижению общего качества жизни в выборке пожилых людей с нарушением зрения. Этот эффект был повсеместным в том смысле, что все субфакторы шкалы качества жизни, по-видимому, были затронуты в одинаковой степени:

пациенты сообщили о значительно более низком качестве жизни в областях, связанных с достижениями, самовыражением, отношениями и их окружением. Ведущими факторами риска социальной изоляции у пожилых пациентов с нарушением зрения оказались низкий уровень доходов (77,3%, $p < 0,001$) и отсутствие высшего образования (60,9%, $p = 0,002$). ■

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ	ADDITIONAL INFORMATION
Источник финансирования. Работа выполнена по инициативе авторов без привлечения финансирования.	Study funding. The study was the authors' initiative without external funding.
Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием настоящей статьи.	Conflict of interest. The authors declare declares that there are no obvious or potential conflicts of interest associated with the content of this article.
Участие авторов. Агарков Н.М. – общая концепция, обсуждение и клиническое обоснование результатов. Попова Н.В. – идея, дизайн исследования, сбор материала, статистический анализ. Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.	Contribution of individual authors. Agarkov N.M. – general concept, discussion and clinical justification of the results. Popova N.V. – idea, research design, material collection, statistical analysis. All authors gave their final approval of the manuscript for submission, and agreed to be accountable for all aspects of the work, implying proper study and resolution of issues related to the accuracy or integrity of any part of the work.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Holt-Lunstad J, Smith TB, Baker M, et al. Loneliness and social isolation as risk factors for mortality: a meta-analytic review. *Perspect Psychol Sci*. 2015;10(2):227-237. DOI: <https://doi.org/10.1177/1745691614568352>
- Donovan NJ, Blazer D. Social Isolation and Loneliness in Older Adults: Review and Commentary of a National Academies Report. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2020;28(12):1233-1244. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jagp.2020.08.005>
- Waite LJ. Social Well-Being and Health in the Older Population: Moving beyond Social Relationships. In: *Future Directions for the Demography of Aging: Proceedings of a Workshop: National Academies Press*. 2018. DOI: <https://doi.org/10.17226/25064>
- Hawkey LC, Capitano JP. Perceived social isolation, evolutionary fitness and health outcomes: a lifespan approach. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2015;370(1669):20140114. DOI: <https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0114>
- Hawton A, Green C, Dickens AP, et al. The impact of social isolation on the health status and health-related quality of life of older people. *Qual Life Res*. 2011;20(1):57-67. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11136-010-9717-2>
- Leigh-Hunt N, Baggeley D, Bash K, et al. An overview of systematic reviews on the public health consequences of social isolation and loneliness. *Public Health*. 2017;152:157-171. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.puhe.2017.07.035>
- Xia N, Li H. Loneliness, Social Isolation, and Cardiovascular Health. *Antioxid Redox Signal*. 2018;28(9):837-851. DOI: <https://doi.org/10.1089/ars.2017.7312>
- Lev IV, Agarkov NM, Starodubtseva LV. Geriatric management tactics for patients with diabetic retinopathy. *Research Results in Biomedicine*. 2023;9(1):129-141. [Лев И.В., Агарков Н.М., Стародубцева Л.В. Гериатрическая тактика ведения пациентов с диабетической ретинопатией. *Научные результаты биомедицинских исследований*. 2023;9(1):129-141]. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2023-9-1-0-9>
- Agarkov NM, Lev IV, Kopylov AE. Biological age as a risk factor for ophthalmological complications in type 2 diabetes mellitus. *Research Results in Biomedicine*. 2023;9(3):383-392. [Агарков Н.М., Лев И.В., Копылов А.Е. Биологический возраст как фактор риска офтальмологических осложнений при сахарном диабете 2-го типа. *Научные результаты биомедицинских исследований*. 2023;9(3):383-392]. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-8>
- Agarkov NM, Kopylov AE, Titov AA, et al. Features of geriatric status in patients with arterial hypertension and coronary heart disease (review). *Research Results in Biomedicine*. 2024;10(1):112-125. [Агарков Н.М., Копылов А.Е., Титов А.А. Особенности гериатрического статуса у пациентов с артериальной гипертензией и ишемической болезнью сердца. *Научные результаты биомедицинских исследований*. 2024;10(1):112-125]. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2024-10-1-0-7>
- Frisch M.B. Evidence-Based Well-Being/Positive Psychology Assessment and Intervention with Quality of Life Therapy and Coaching and the Quality of Life Inventory (QOLI). *Social Indicators Research*. 2013;193-227. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11205-012-0140-7>
- Valtorta NK, Kanaan M, Gilbody S, et al. Loneliness and social isolation as risk factors for coronary heart disease and stroke: systematic review and meta-analysis of longitudinal observational studies. *Heart*. 2016;102(13):1009-1016. DOI: <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2015-308790>
- Hakulinen C, Pulkki-Räback L, Virtanen M, Jokela M, Kivimäki M, Elovainio M. Social isolation and loneliness as risk factors for myocardial infarction, stroke and mortality: UK Biobank cohort study of 479 054 men and women. *Heart*. 2018;104(18):1536-1542. DOI: <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2017-312663>
- Barth J, Schneider S, von Känel R. Lack of social support in the etiology and the prognosis of coronary heart disease: a systematic review and meta-analysis. *Psychosom Med*. 2010;72(3):229-238. DOI: <https://doi.org/10.1097/PSY.0b013e318d016111>
- National Academies of Sciences E, and Medicine. Social Isolation and Loneliness in Older Adults: Opportunities for the Health Care System. In: *The National Academies Press*; Washington, D.C.: 2020.
- Holt-Lunstad J, Smith TB, Layton JB. Social relationships and mortality risk: a meta-analytic review. *PLoS Med*. 2010;7(7):e1000316. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000316>
- Zhang Y, Ma ZF. Impact of the COVID-19 Pandemic on Mental Health and Quality of Life among Local Residents in Liaoning Province, China: A Cross-Sectional Study. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(7):2381. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph17072381>

Оригинальное исследование | Original study article
DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM634378>

 This work is licensed under CC BY 4.0
© Authors, 2024

Clinical and immunological characteristics of COVID-19 in patients with disease dynamics

Yana A. Safronova, Mariya A. Charkina, Aleksandr S. Pankov

Orenburg State Medical University (Orenburg, Russian Federation)

Abstract

Aim – to study the clinical and immunological indicators of COVID-19 convalescents 1 and 3 months after the disease in dynamics with the determination of predictors of the development of changes in the lungs.

Material and methods. The object of the study was 35 patients aged 22 to 75 years in the dynamics of COVID-19 disease, divided into two groups according to the identified clinical and immunological disorders. Markers of cellular (CD-3, CD-4, CD-8, CD-19) and humoral immunity, cytokines (IL-6,8, TGF- β , TNF- α), CEC were determined in all examined patients. Statistical processing of the obtained results was carried out using the Statistica 10.0 software suite.

Results. It was found that all the subjects retained clinical and immunological changes during the entire follow-up period, which indicates an ongoing disease. At the same time, significant differences in the severity of changes in individuals were revealed, taking into account age and the presence of chronic somatic pathology, expressed primarily in violation of the parameters of the T-system of immunity. In patients with the development of post-Covid

changes in the lungs, characteristic immunological features were revealed, taking into account age.

Conclusions. A violation of the identified indicators of the immune system may indicate the persistence of the virus, which means a prolongation of a specific inflammatory response with the risk of extensive tissue damage. The tendency towards the formation of humoral immunity persists in both groups within three months after recovery. Humoral immunity was formed by the end of 1 month after the disease in both groups and continued to persist throughout the entire follow-up period. In the risk group for the development of pneumofibrosis in the outcome of a new coronavirus infection, the combination of IL-8 and TGF- β is the most optimal, despite their significant decrease in dynamics compared with the acute period.

Keywords: cellular immunity, humoral immunity, convalescents of COVID-19, catamnesis.

Conflict of interest: nothing to disclose.

Citation

Safronova YaA, Charkina MA, Pankov AS. **Clinical and immunological characteristics of COVID-19 in patients with disease dynamics.** *Science and Innovations in Medicine.* 2024;9(4):272-277.

DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM634378>

Information about authors

Yana A. Safronova – a postgraduate student of the Epidemiology and Infectious Diseases Department.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3949-6851>

E-mail: charkina.ya@yandex.ru

Mariya A. Charkina – a student of the Faculty of Medicine.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-2889-5582>

E-mail: charkina.marya@gmail.com

Aleksandr S. Pankov – PhD, Associate professor, Head of the Epidemiology and Infectious Diseases Department, Director of the Research Center.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4994-6633>

E-mail: aspan751@mail.ru

Corresponding Author

Yana A. Safronova

Address: Orenburg State Medical University, 6 Sovetskaya st., Orenburg, Russia, 460014.

E-mail: charkina.ya@yandex.ru

Received: 16.07.2024

Accepted: 09.09.2024

Published: 27.10.2024

Клинико-иммунологическая характеристика COVID-19 у пациентов в динамике заболевания

Я.А. Сафронова, М.А. Чаркина, А.С. Паньков

Оренбургский государственный медицинский университет (Оренбург, Российская Федерация)

Аннотация

Цель – изучить клинико-иммунологические показатели реконвалесцентов COVID-19 через один и три месяца после перенесенного заболевания с определением предикторов развития изменений в легких.

Материал и методы. Объектом исследования были 35 пациентов в возрасте от 22 до 75 лет в динамике заболевания COVID-19, разделенные на две группы в соответствии с выявленными клинико-иммунологическими нарушениями. У всех обследованных были определены маркеры клеточного (CD-3, CD-4, CD-8, CD-19) и гуморального иммунитета, цитокины (IL-6,8, TGF- β , TNF- α), ЦИК. Статистическая обработка полученных результатов была проведена с использованием компьютерной программы Statistica 10.0.

Результаты. Было установлено, что у всех обследуемых сохраняются клинико-иммунологические изменения в течение всего периода наблюдения, что свидетельствует о продолжающемся заболевании. При этом выявлены существенные отличия выраженности изменений у лиц с учетом возраста и наличия хронической соматической патологии, выражающиеся в первую очередь в нарушении параметров Т-системы иммунитета.

У пациентов с развитием постковидных изменений в легких выявлены характерные иммунологические особенности с учетом возраста.

Выводы. Нарушение выявленных показателей иммунной системы может свидетельствовать о персистенции вируса, а значит, о пролонгации специфического воспалительного ответа с риском обширного повреждения ткани. В течение трех месяцев после выздоровления в обеих группах сохранялась тенденция к формированию гуморального иммунитета. Гуморальный иммунитет сформировался к концу первого месяца после перенесенного заболевания в обеих группах и сохранился в течение всего периода наблюдения. В группе риска развития пневмофиброза в исходе новой коронавирусной инфекции наиболее оптимальным является сочетание IL-8 и TGF- β , несмотря на достоверное уменьшение их в динамике по сравнению с острым периодом.

Ключевые слова: клеточный иммунитет, гуморальный иммунитет, реконвалесценты COVID-19, катамнез.

Конфликт интересов: не заявлен.

Для цитирования:

Сафронова Я.А., Чаркина М.А., Паньков А.С. Клинико-иммунологическая характеристика COVID-19 у пациентов в динамике заболевания. Наука и инновации в медицине. 2024;9(4):272-277.
DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM634378>

Сведения об авторах

Сафронова Я.А. – аспирант кафедры эпидемиологии и инфекционных болезней.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3949-6851>

E-mail: charkina.ya@yandex.ru

Чаркина М.А. – студентка лечебного факультета.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-2889-5582>

E-mail: charkina.marya@gmail.com

Паньков А.С. – д-р мед. наук, доцент, заведующий кафедрой эпидемиологии и инфекционных болезней, директор НИЦ.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4994-6633>

E-mail: aspan751@mail.ru

Список сокращений

ЦИК – циркулирующие иммунные комплексы; ФП – фагоцитарный показатель;

КТ – компьютерная томография; ССЗ – сердечно-сосудистое заболевание;

СД – сахарный диабет.

Автор для переписки

Сафронова Яна Александровна

Адрес: Оренбургский государственный медицинский университет, ул. Советская, 6, г. Оренбург, Россия, 460014.

E-mail: charkina.ya@yandex.ru

Получено: 16.07.2024

Одобрено: 09.09.2024

Опубликовано: 27.10.2024

■ INTRODUCTION

Despite the fact that in May 2023, WHO declared the end of the COVID-19 pandemic, data on the persistence of symptoms in convalescents that significantly reduce the quality of life, continue to emerge. The main complaints are fatigue, shortness of breath, muscle weakness, impaired concentration, impaired sense of smell, and lack of sleep [1]. The high prevalence of respiratory failure in the outcome of the new coronavirus infection, the need for artificial ventilation in patients with severe disease contribute to the development of remote pulmonary complications, primarily pulmonary fibrosis [2]. The pathogenesis of COVID-19 is based on pathoimmunological mechanisms with a damaging effect on organs and tissues.

The diversity of clinical manifestations of the course of infection in the follow-up determines the interest in studying clinical and immunological changes in dynamics in COVID-19 convalescents of different age. The pathogenesis of multiple organ damage in COVID-19 is diverse and is associated, firstly, with the direct cytopathic effect of the virus on tropic cells, secondly, with the damaging effect of cytokines, and thirdly, with a violation of the hemostasis system due to damage to the endothelium with the development of thrombosis.

The issue of the development of remote changes in a past infection, as well as proinflammatory mechanisms of prolongation of changes in the lungs, has interested scientists for quite some time. The aspects of formation of pulmonary fibrosis as a result of viral infections have been studied most thoroughly using MERS-CoV, SARS-CoV influenza as an example [3, 4, 2, 5–7]. Thus, in the influenza caused by the H1N1 virus, the development of fibrosis is of a multi-factor nature: aggressive fibroblastic activity that occurs in response to massive damage to lung tissue and hypoxia, high level of TNF- α correlating with the duration of hypoxia, and the role of TGF- β , independent from other factors, in the stimulation of fibroblast proliferation and subsequent growth of connecting tissue [3, 8, 9].

Based on the data from a retrospective analysis of foreign colleagues, Russian scientists identified the pathogenetic mechanisms of the lung fibrosis induced by SARS-CoV-2 [1–3]. Important roles were identified in the tumor necrosis factor α , transforming factor β , interleukin-6, which is confirmed by the increase of the said factors in the COVID-19 patients' serum. The literature describes cases of detection of fibrogenesis biomarkers in bronchoalveolar lavage (BAL) 24 hours after the development of ARDS [1, 2]. Data on the assessment of biomarkers in blood serum in comparison

with radiological data in dynamics in convalescents are not provided.

The importance and clinical significance of immunological aspects of development of lifelong complications of the disease in the form of fibrosis have been studied for years [2, 3]. Understanding the mechanisms involved in the development of long-term sequelae of SARS-CoV-2 infection necessitates monitoring patients beyond the acute stage of SARS-CoV-2 infection.

■ AIM

To study the clinical and immunological parameters of COVID-19 convalescents one month and three months after the disease with the identification of predictors of the development of changes in the lungs.

■ MATERIAL AND METHODS

The study was performed in the scientific research center of the Orenburg State Medical University (OSMU). *Inclusion criteria*: positive PCR result from the nasopharynx for the presence of SARS-CoV-2, bilateral viral pneumonia according to the results of computed tomography of the chest organs. All patients signed informed voluntary consent for the processing of personal data and medical intervention upon hospitalization.

Thirty-five (35) convalescents aged 22 to 75 years were examined in the dynamics of the COVID-19 disease (one and three months after recovery). During the examination, patients were divided into two groups in accordance with the identified clinical and immunological disorders. The first group included young and adult individuals (n=20); the second, elderly and senior individuals (n=15). As the control, the standard values of immunological indicators developed in the OSMU problem laboratory for studying the mechanisms of natural immunity were used.

In all of the examined individuals, markers of cellular immunity were identified (CD-3, CD-4, CD-8, CD-19) by immunofluorescence using monoclonal antibodies from "Sorbent" (Moscow); phagocytic index and phagocytic index in relation to *St. aureus*, metabolic activity of segmented neutrophils in spontaneous and induced reaction with nitroblue tetrazolium dye (NBT test); levels of A, M, G immunoglobulins in the immunodiffusion reaction, as well as content of circulating immune complexes (CIC) in a precipitation reaction with polyethyleneglycol, cytokines IL-6, IL-8, TGF- β , TNF- α by enzyme immunoassay (EIA) using test systems from "Vector Best". To identify a possible relationship between qualitative characteristics, the Pearson coefficient

Characteristic	Total sample	Young and adult age (n=20)	Senior and old age (n=15)
Age	52,4±17,6	53,7±13,5	76,2±13,8
Sex	Male	23 (65,7%)	13 (65%)
	Female	12 (34,3%)	5 (33%)
CVD	5 (14%)	4 (20%)	1 (6,7%)
Respiratory system	3 (8,5%)	1 (2%)	2 (13,3%)
Diabetes mellitus	4 (11,4%)	2 (10%)	2 (13,3%)
Obesity	4 (11,4%)	2 (10%)	2 (13,3%)
Multiple sclerosis	2 (5,7%)	2 (10%)	0
Mixed nosology	10 (28,5%)	2 (10%)	8 (53%)
Severe degree of COVID-19	12 (34,3%)	5 (25%)	7 (46,7%)
Disease duration before hospitalization, M±SD	6,3±1,7	7,8±2,2	8,5±2,15
Duration of hospitalization, M±SD	13,56±3,44	12,47±4,03	23,71±11,2

Table 1. General characteristics of the studied groups of patients

Таблица 1. Общая характеристика исследуемых групп пациентов

Immune status values in convalescents		After one month Me [Q ₂₅ ; Q ₇₅]		After three months Me [Q ₂₅ ; Q ₇₅]	
		Group 1 (n=25)	Group 2 (n=19)	Group 1 (n=25)	Group 2 (n=19)
Leukocytes, 10 ⁹ /л		4,1	7,9	7,1	5,6
Lymphocytes	%	25,6 [24,25; 27,25]	10,4 [9,1; 14,3]	35,4 [27; 41]	24,1 [19,8; 29,7]
	10 ⁹ /л	1,09 [1,25; 1,37] ↓	0,81 [0,61; 1,45]	2,4 [1,96; 3,034]	1,97 [1,86; 2,091]
CD-3	%	52 [46,25; 57,25] ↓	44 [39; 54]	56 [50; 60]	47 [46; 51] ↓
	10 ⁹ /л	0,46 [0,62; 0,72] ↓	0,511 [0,166; 0,751]	1,344 [0,98; 1,608]	0,943 [0,82; 0,95]
CD-4	%	36 [35; 37,5]	30 [26; 41] ↓	48 [42; 53]	33,6 [30; 41] ↓
	10 ⁹ /л	0,37 [0,19; 0,49]	0,23 [0,16; 0,41] ↓	1,152 [0,769; 1,305]	0,219 [0,12; 0,68] ↓
CD-8	%	25 [18; 30]	32 [25; 34]	30 [23; 31]	21,6 [20,2; 26,3]
	10 ⁹ /л	0,297 [0,18; 0,67]	0,29 [0,19; 0,47]	0,72 [0,52; 0,758] ↑	0,386 [0,23; 0,51]
CD-19	%	14 [10; 17]	15 [12; 21]	16 [12; 23]	21,4 [20; 24] ↑
	10 ⁹ /л	0,129 [0,13; 0,19]	0,15 [0,11; 0,21]	0,379 [0,359; 0,48]	0,414 [0,37; 0,49]
PC, %		49,5 [33,5; 66,75]	33 [28,7; 42,9]	39 [33; 50]	38,2 [35; 41]
PI, conv. Units		5,65 [4,525; 6,4]	3,8 [3,5; 3,9]	3,9 [3,7; 4,2]	4,34 [3,9; 4,4]
Spontaneous NBT, %		3,62 [3; 4,35] ↓	1,2 [0,7; 2,3]	1,0 [0,7; 1,3]	2,72 [1; 4,3] ↓
Stimulated NBT, %		27,8 [15; 46,28] ↓	44,2 [37,8; 45,4]	35,7 [34,7; 43,7]	35,14 [25,7; 47,3]
CIC, U		144 [154; 169,5] ↑	178 [67; 393]	113 [96; 227]	233,2 [175; 193] ↑
IgA, g/l		2,4 [2,13; 3,125]	2,53 [2,15; 3,03]	2,84 [2,23; 4,46]	3,51 [2,57; 4,22]
IgM, g/l		0,8 [0,6; 1,05] ↓	1,31 [1,13; 1,31]	1,31 [1,31; 1,76]	0,84 [0,6; 1,2] ↓
IgG, g/l		10,2 [6,8; 13,34]	10,56 [8,94; 10,68]	11,52 [6,91; 13,81]	10 [6,79; 13,81]
IgM specific to SARS-CoV-2		0,95 [1; 1,3]	4,71 [3,15; 10,73]	3,86 [1,77; 4,42]	1,64 [1,2; 1,97]
IgG specific to SARS-CoV-2		18,9 [15,6; 20]	16,9 [14,92; 18,67]	15,90 [11,92; 20,17]	16,65 [15; 17]

Note: values in bold are credibly ($p < 0.05$) different from normative values.

Table 2. Indicators of immune status in COVID-19 convalescents in the catamnesis

Таблица 2. Показатели иммунного статуса у реконвалесцентов COVID-19 в катанезе

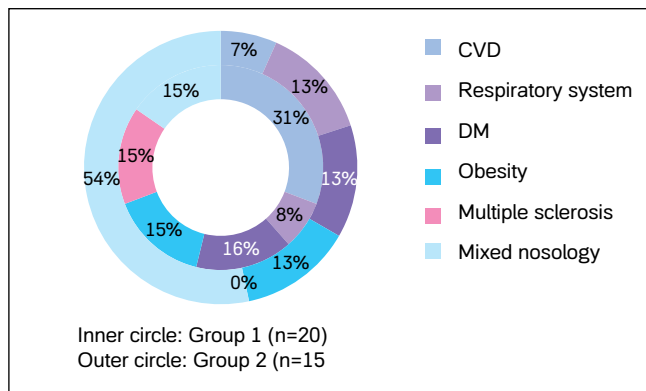


Figure 1. Characteristics of the sample, taking into account the comorbid background.

Рисунок 1. Характеристика выборки с учетом коморбидного фона.

was determined; between quantitative and qualitative characteristics, the methods of group and one-factor variance analysis with the determination of the F-test, the Kruskal-Wallis test was used. Methods of multivariate statistics were used, namely descriptive statistics. Statistical processing of the obtained results was carried out using Statistica 10.0 software suite.

RESULTS

The results obtained are shown in **Tables 1–3**. The average age of the patients in the first group was 53.7±13.5 years; the patients were predominantly male, 60% (15 patients). In the second group, the average age was 76.2±13.8 years; the patients were also predominantly male, 63.2% (12 patients). The predominance of males in the study group is associated with gender-specific features of the epidemiology of acute viral infections [10–12].

The analysis of the comorbid background revealed that young and adult patients had cardiovascular diseases (CVDs) most frequently (**Fig. 1**). Senior and old individuals had conditions of mixed nosology (diabetes mellitus, obesity, CVDs, diseases of the respiratory system). The most statistically significant ($p < 0.05$) were the cardiovascular diseases in both age groups, as well as diabetes mellitus in senior and old age.

Among the patients with severe forms of the disease, senior and old patients were 58% (7 patients) from the total number of examined individuals (**Fig. 2**). The comorbid background, and the duration of the disease before hospitalization had statistical significance on the progression of the disease severity, which conforms with the data from the literature [10, 11, 13].

	After 1 month		After 3 months		Norm
	Group 1	Group 2	Group 1	Group 2	
IL-6	8,6	53,16	3,3	33,72	He > 10 пг/мл
IL-8	7,3	8,34	13,4	11,49	He > 10 пг/мл
TNF-α	5,1	4,36	3,7	6,1	He > 6 пг/мл
TGF-β	6,43	18,72	22,3	11,88	He > 38 нг/мл

Table 3. Assessment of cytokines in the blood of COVID-19 convalescents in dynamics

Таблица 3. Оценка цитокинов в крови у реконвалесцентов COVID-19 в динамике

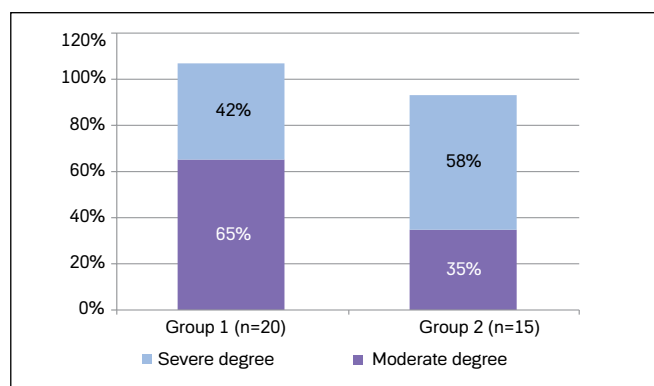


Figure 2. Characteristics of the sample, taking into account the degrees of severity.

Рисунок 2. Характеристика выборки с учетом степеней тяжести.

The values in bold have a credible difference from normative values ($p < 0.05$). These include values of T-cellular immunity CD-3, CD-4, cytotoxic lymphocytes CD-8, phagocytic value, phagocytic index, IgA, amount of CIC, nitro-blue tetrazolium reduction test.

In both groups, absolute and relative lymphopenia was identified (CD-3, CD-4) one month after recovery. In the patients of the second group, the changes in CD-3 and CD-4 persisted for three subsequent months.

The evaluation of the CD-8 level revealed minor differences in both groups one month after the recovery. Three months after the recovery, there was a tendency towards decreasing of the CD-8 level as compared to the control values in the older patient group.

In patients of both groups, the IgA level had boundary values one month after the recovery, while the distribution of IgM and IgG was normal. In older patients, an increase of the IgA was identified three months after the recovery with normal values of IgM and IgG. The amount of specific IgM and IgG against SARS-CoV-2 in both groups was sufficient throughout the entire follow-up period.

The level of CIC was elevated in both groups one month after the recovery and in the follow-up.

Minor differences were seen in the assessment of phagocyte values in both groups; they were observed to decrease with the phagocyte index remaining stable, and the results of the spontaneous NBT test were lower one month after the discharge. In the second group of patients, the changes persisted.

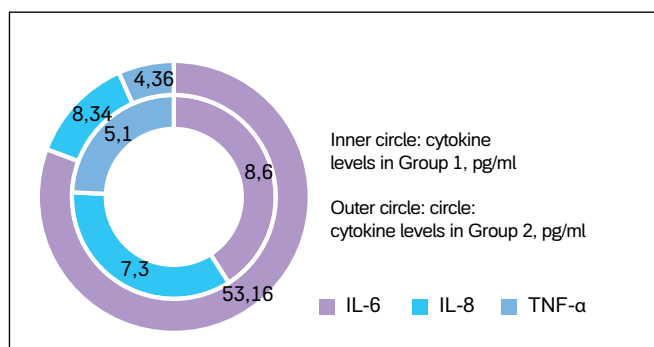


Figure 3. Cytokine changes after 1 month in convalescents.

Рисунок 3. Изменение цитокинов через 1 месяц у реконвалесцентов.

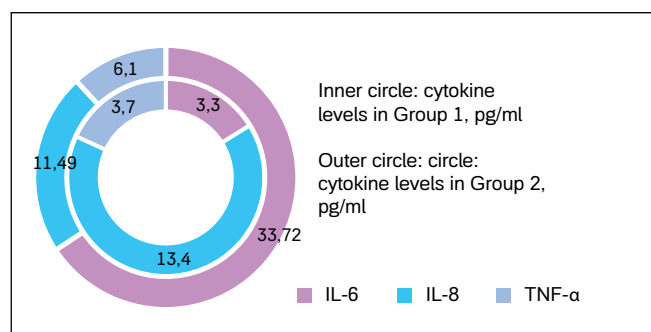


Figure 4. Cytokine changes after 3 months in convalescents.

Рисунок 4. Изменение цитокинов через 3 месяца у реконвалесцентов.

The analysis of the cytokines revealed various changes (Fig. 3, 4). In the first group, the changes only appeared three months after the recovery (increase of the IL-8). In the patients of the second group, the increase of the IL-6 was seen one month past the infection despite the implementation of targeted therapy. In three months, an increase of the IL-8 and TGF-β was observed (Fig. 5).

DISCUSSION

Our study established that clinical and immunological changes persist throughout the entire duration of the disease in all examined individuals; this indicates that the disease was in progress. The revealed significant differences in the degree of changes in clinical and immunological parameters in individuals, taking into account age and the presence of chronic somatic pathology, are expressed primarily in the violation of the parameters of the T-system of immunity. These circumstances are novel and require discussion [14, 15]. An important problem is the assessment of risks of development of a severe course of the disease, as well as influence of various factors and development of adverse outcomes [16, 2, 17]. The fact that the convalescents still demonstrated symptoms of COVID-19 for more than 21 days confirms importance of studying the changes in the immunity after the disease [12, 16, 18, 19].

According to literature data, the leading role in the formation of immunity is assigned to CD4+ T-cells due to the neutralization of antibodies and the emigration of lymphocytes into the lung tissue [20, 4]. The functional lowering of the level of cytotoxic CD8+ lymphocytes

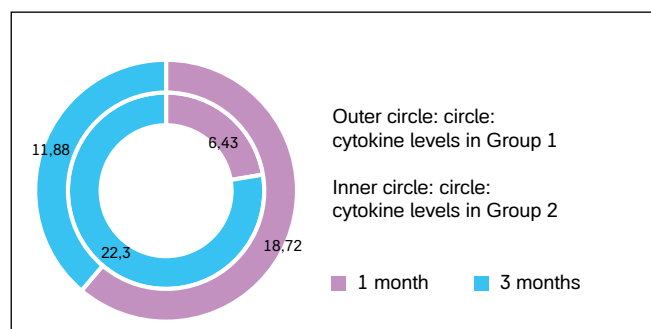


Figure 5. Change in cytokine TGF-β after 1, 3 months in convalescents, ng/ml.

Рисунок 5. Изменение цитокина TGF-β через 1, 3 месяца у реконвалесцентов, нг/мл.

correlates with the progression of the disease, and vice versa [5, 7]. Disruption in several components of the immune system may indicate the persistent nature of the virus, and, respectively, the persistence of the specific inflammatory response and severe tissue injury.

Our research also correlates the abnormal quantities of CD-3 and CD-4 cells in patients with the development of severe forms of the disease regardless of the initial moderate progression. The time required for the normal levels of the immunity depends on the age. Additionally, the quantitative change in the cytotoxic CD-8 lymphocytes in the patients of Group 2 three months after the disease creates the conditions for exacerbation of chronic infections, risk of development of other acute infections, but still is not sufficient for the development of autoimmune reactions. It is necessary to study the immune parameters in the follow-up in order to understand of mechanisms of deferred changes in the convalescents' organism [12, 16, 19].

As a rule, humoral and cellular immunity should be formed in patients who have had a new coronavirus infection, but the response of antibodies and specific CD8+ T-lymphocytes develops independently of each other and is determined by genetic factors [21, 19]. Within three months after the disease, the examined groups retained the capability for a specific humoral response with respect to the normal levels of cytotoxic lymphocytes [14, 5].

The elevated amounts of CIC in both groups in the follow-up may be related to exacerbation of chronic diseases and advances a high risk of development of auto-allergic reactions [11, 20, 4].

A relevant intra-vital outcome of COVID-19 that affects the patient's quality of life is the development of pneumofibrosis [13, 17, 22]. The literature describes at least two mechanisms of development of pneumofibrosis under the new coronavirus infection. Firstly, the capability of SARS-CoV-2 to induce the decrease of ACE-2 clearance in the lungs resulting in a disruption of TGF- β and CTGF regulation [3, 5, 15]. Secondly, the direct cytopathic action of TNF- α on the capillary endothelium of alveolar wall, the proinflammatory action being supported by IL-6, IL-8,

IL-18 [3, 10]. The damage of the basement membranes seen in the new coronavirus infection promotes a progressive growth of fibroblastic tissue. The prognostic significance of these factors remains poorly understood and relevant for understanding the risks of developing long-term consequences of the disease.

The identified changes of the cytokines (IL-6, IL-8, TNF- α , TGF- β) in convalescents of COVID-19 were analyzed with respect to development of post-COVID changes in the lungs using the method of CT of the lungs [10, 5]. The increase of the IL-8 and TGF- β , when compared to the X-ray pattern of the pneumofibrosis in the convalescents confirms the correlation of the indicators. The absence of pneumofibrosis on CT may indicate an existing high predisposition to the development of pneumofibrosis with characteristic blood changes in the presence of any trigger (viruses of influenza, SARS-CoV-2, and other ARDs) [3, 13, 17]. In a similar study, the characteristics of immunity of patients with co-infection of influenza and COVID-19 in the acute stage of the disease when assessing the cytokines, saw normal values of IL-6, IL-8, TGF- β , TNF- α , which indicates a low risk of development of lung fibrosis [12].

CONCLUSIONS

1. The persistence of clinical and immunological changes in the body of convalescents indicates the persistence of the SARS-CoV-2 virus, and an increase in the level of CIC indicates the prolongation of the damaging effect of the virus on the body of the recovered individual.

2. The pronounced disruptions caused decrease in the levels of CD-3, CD-4. Statistically significant changes were identified in the group of senior patients due to preservation of absolute and relative lymphopenia throughout the period of observation.

3. In the risk group of pneumofibrosis development, the most optimal is the combined increase in the levels of IL-8 and TGF- β . The absence of pneumofibrosis on CT with an immunological pattern of the blood may indicate a high predisposition of this group of patients towards development of pneumofibrosis. ■

ADDITIONAL INFORMATION	ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ
Study funding. The study was the authors' initiative without external funding.	Источник финансирования. Работа выполнена по инициативе авторов без привлечения финансирования.
Conflict of interest. The authors declare that there are no obvious or potential conflicts of interest associated with the content of this article.	Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием настоящей статьи.
Contribution of individual authors. Ya.A. Safronova – research concept and design, material collection and processing, statistical data processing, text writing, editing. M.A. Charkina – material collection and processing, text writing. A.S. Pankov – editing, approval of the final version of the article. All authors gave their final approval of the manuscript for submission, and agreed to be accountable for all aspects of the work, implying proper study and resolution of issues related to the accuracy or integrity of any part of the work.	Участие авторов. Я.А. Сафронова – концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, статистическая обработка данных, написание текста, редактирование. М.А. Чаркина – сбор и обработка материала, написание текста. А.С. Паньков – редактирование, утверждение окончательного варианта статьи. Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.

REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА

1. Lechowicz K, Drozdal S, et al. COVID-19: The potential treatment of pulmonary fibrosis associated with SARS-CoV-2 infection. *Journal of clinical medicine*. 2020;9(1917):1-20.
2. Frolova EV, Filippova LV. Immunological features of patients with COVID-19 depending on the severity of the disease. *Problems of medical mycology*. 2021;23(1):3-13. [Фролова Е.В., Филиппова Л.В. Иммунологические особенности пациентов с COVID-19 в зависимости от степени тяжести заболевания. *Проблемы медицинской микологии*. 2021;23(1):3-13].
DOI: <https://doi.org/10.26442/1999-6780-2021-1-3-13>
3. Avdeev SN. Idiopathic pulmonary fibrosis. *Consilium Medicum*. 2017;19(3):17-23. (In Russ.). [Авдеев С.Н. Идиопатический легочный фиброз. *Consilium Medicum*. 2017;19(3):17-23].
DOI: https://doi.org/10.26442/2075-1753_19.3.17-23
4. Safronova YaA, Pankov AS. The characteristics of peripheral blood and immune status in patients with influenza and COVID-19 co-infection. *Aspirantskiy vestnik Povolzh'ya*. 2024;24(1):4-8. [Сафронова Я.А., Паньков А.С. Характеристика показателей периферической крови и иммунного статуса у пациентов с коинфекцией грипп и COVID-19. *Аспирантский вестник Поволжья*. 2024;24(1):4-8].
DOI: <https://doi.org/10.35693/AVP602350>
5. Cohen KW, Linderman SL, Moodie, et al. Longitudinal analysis shows durable and broad immune memory after SARS-CoV-2 infection with persisting antibody responses and memory B and T cells. *Cell Rep Med*. 2021;2(7):100354.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2021.100354>
6. Michelen M, Manoharan L, Elkheir N, et al. Characterising long COVID: a living systematic review. *BMJ Global Health*. 2021;6:e005427.
DOI: <https://doi.org/10.1136/bmjgh-2021-005427>
7. Rydzynski-Moderbacher C, Ramirez SI, Dan JM, et al. Antigen-specific adaptive immunity to SARS-CoV-2 in acute COVID-19 and associations with age and disease severity. *Cell*. 2020;183(4):996-1012.e19.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.09.038>
8. Topolyanskaya SV. Connective Tissue Growth Factor in Normal and Pathological Processes. *The Russian Archives of Internal Medicine*. 2020;10(4):254-261. [Тополянская С.В. Фактор роста соединительной ткани в норме и патологии. *Архив внутренней медицины*. 2020;10(4):254-261].
DOI: <https://doi.org/10.20514/2226-6704-2020-10-4-254-26>
9. Usenko DV, Tkachukshinova NK, Shaturina TT, et al. Acute respiratory infections and flu during the COVID-19 pandemic. What to expect in 2021–2022. *Russian Medical Inquiry*. 2021;5(11):721-727. [Усенко Д.В., Тхакушинова Н.Х., Шатурина Т.Т., и др. Острые респираторные инфекции и грипп в период пандемии COVID-19 – к чему готовиться в сезоне 2021–2022 гг. *РМЖ. Медицинское обозрение*. 2021;5(11):721-727].
DOI: <https://doi.org/10.32364/2587-6821-2021-5-11-721-727>
10. Arsentieva NA, Liubimova NE, Batsunov OK, et al. Plasma cytokines in patients with COVID-19 during acute phase of the disease and following complete recovery. *Medical Immunology (Russia)*. 2021;23(2):311-326. [Арсентьева Н.А., Любимова Н.Е., Батунов О.К., и др. Цитокины в плазме крови больных COVID-19 в острой фазе заболевания и фазе полного выздоровления. *Медицинская иммунология*. 2021;23(2):311-326].
DOI: <https://doi.org/10.15789/1563-0625-PCI-2312>
11. Recommendations for the management of patients with COVID-19 coronavirus infection in the acute phase and with postcovid syndrome in outpatient settings. Ed. Vorob'ev P.A. *Problems of standardization in healthcare*. 2021;7-8:3-96. (In Russ.). [Рекомендации по ведению больных с коронавирусной инфекцией COVID-19 в острой фазе и при постковидном синдроме в амбулаторных условиях. Под ред. проф. Воробьева П.А. *Проблемы стандартизации в здравоохранении*. 2021;7-8:3-96].
DOI: <https://doi.org/10.26347/1607-2502202107-08003-096>
12. Pankov AS, Nosyrev SYu, Karimov IF, et al. Assessing of Humoral Immunity to SARS-CoV-2 in Residents of Orenburg During the Epidemic Period. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2022;21(2):17-22. [Паньков А.С., Носырева С.Ю., Каримов И.Ф., Корнеев А.Г., Борисов С.Д. Оценка гуморального иммунитета к SARS-CoV-2 у жителей Оренбурга в эпидемический период. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2022;21(2):17-22].
DOI: <https://doi.org/10.31631/20733046-2022-21-2-17-22>
13. Chuchalin AG. Pulmonary fibrosis in patients who have undergone COVID-19. *Therapeutic Archive*. 2022;94(11):1333-1339. [Чучалин А.Г. Фиброз легких у больных, перенесших COVID-19. *Терапевтический архив*. 2022;94(11):1333-1339].
DOI: <https://doi.org/10.26442/00403660.2022.11.201943>
14. Ansari A, Arya R, et al. Immune Memory in Mild COVID-19 Patients and Unexposed Donors Reveals Persistent T Cell Responses After SARS-CoV-2 Infection. *Front Immunol*. 2021;12:636768.
DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.636768>
15. Nalbandian A, Sehgal K, et al. Post-acute COVID-19 syndrome. *Nat Med*. 2021;27(4): 601-615.
16. Frolova EV, Filippova LV. Monitoring of immunological parameters in COVID-19 convalescents. *Problems of medical mycology*. 2022;24(1):3-10. (In Russ.). [Фролова Е.В., Филиппова Л.В. Мониторинг иммунологических показателей у реконвалесцентов COVID-19. *Проблемы медицинской микологии*. 2022;24(1):3-10].
DOI: <https://doi.org/10.24412/1999-6780-2022-1-3-10>
17. Sheng G, Chen P, et al. Viral infection increases the risk of idiopathic pulmonary fibrosis: A meta-analysis. *Chest*. 2020;157(5):1175-1187.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chest.2019.10.032>
18. Wong AW, Fidler L, et al. Practical considerations for the diagnosis and treatment of fibrotic interstitial lung disease during the coronavirus disease 2019 pandemic. *Chest*. 2020;158(3):1069-1078.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chest.2020.04.019>
19. Zhang J, Lin H, et al. One-Year Sustained Cellular and Humoral Immunities in Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Convalescents. *Clin Infect Dis*. 2022;75(1):1072-1081.
DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/ciab884>
20. Ivanova IA, Omelchenko ND, Filippenko AV, et al. Role of the cellular immunity in the formation of the immune response in coronavirus infections. *Medical Immunology (Russia)*. 2021;23(6):1229-1238. [Иванова И.А., Омельченко Н.Д., Филиппенко А.В., и др. Роль клеточного звена иммунитета в формировании иммунного ответа при коронавирусных инфекциях. *Медицинская иммунология*. 2021;23(6):1229-1238].
DOI: <https://doi.org/10.15789/1563-0625-ROT-2302>
21. Zheng HY, Zhang M, Yang CX, et al. Elevated exhaustion levels and reduced functional diversity of T cells in peripheral blood may predict severe progression in COVID-19 patients. *Cell Mol Immunol*. 2020;17(5):541-543.
DOI: <https://doi.org/10.1038/s41423-020-0401-3>
22. Bobik TV, Kostin NN, et al. COVID-19 in Russia: clinical and immunological features of the first-wave patients. *Acta Naturae*. 2021;13(1):102-115.
DOI: <https://doi.org/10.32607/actanaturae.11374>

Оригинальное исследование | Original study article
DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM625305>

 This work is licensed under CC BY 4.0
© Authors, 2024

Особенности цитокинового профиля у больных новой коронавирусной инфекцией на фоне хронического гепатита С

Е.И. Темник, Д.Ю. Константинов, Л.Л. Попова
ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет»
Минздрава России (Самара, Российская Федерация)

Аннотация

Цель – оценить отдельные показатели цитокинового профиля у пациентов с новой коронавирусной инфекцией и хроническим гепатитом С в зависимости от степени тяжести COVID-19 и выраженности фиброза печени.

Материал и методы. Было проведено сравнительное исследование лабораторных и инструментальных данных 147 пациентов с COVID-19 и ХГС, которые составили первую группу; вторая группа состояла из 81 пациента с COVID-19, а третья группа – из 94 пациентов с ХГС. Пациенты первой и второй групп были разделены на подгруппы с учетом степени тяжести COVID-19, а также по выраженности фиброза печени.

Результаты. Установлено, что у 73% пациентов с сочетанием COVID-19 и ХГС в разгаре новой коронавирусной инфекции наблюдалось повы-

шение уровня ряда цитокинов относительно аналогичных показателей у пациентов с ХГС без COVID-19. Кроме того, значения некоторых цитокинов значимо отличались от показателей больных COVID-19 без учета степени тяжести заболевания. Также отмечено, что у пациентов с сочетанием COVID-19 и ХГС при тяжелом течении новой коронавирусной инфекции значения некоторых цитокинов были на более высоком уровне, чем у больных только COVID-19. Кроме того, в группе больных с сочетанием COVID-19 и ХГС по мере прогрессирования фиброза печени отмечено повышение значений некоторых цитокинов.

Ключевые слова: COVID-19, хронический гепатит С, цитокины.

Конфликт интересов: не заявлен.

Для цитирования:

Темник Е.И., Константинов Д.Ю., Попова Л.Л. Особенности цитокинового профиля у больных новой коронавирусной инфекцией на фоне хронического гепатита С. Наука и инновации в медицине. 2024;9(4):278-283.
DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM625305>

Сведения об авторах

Темник Е.И. – ассистент кафедры инфекционных болезней с эпидемиологией.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4283-1481>

E-mail: elizabeth_temnik@outlook.com

Константинов Д.Ю. – д-р мед. наук, доцент, заведующий кафедрой инфекционных болезней с эпидемиологией.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6177-8487>

E-mail: d.u.konstantinov@samsmu.ru

Попова Л.Л. – д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры инфекционных болезней с эпидемиологией.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0549-361X>

E-mail: l.l.popova@samsmu.ru

Автор для переписки

Попова Лариса Леонидовна

Адрес: Самарский государственный медицинский университет, пр. Карла Маркса, 165б, г. Самара, Россия, 443079.

E-mail: l.l.popova@samsmu.ru

Список сокращений

ХГС – хронический гепатит С; ИЛ – интерлейкин; ИФН – интерферон; ФНО – фактор некроза опухоли; ЦС – цитокиновый спектр; ИФА – иммунофлюоресцентный анализ.

Получено: 26.12.2023

Одобрено: 06.03.2024

Опубликовано: 28.04.2024

Characteristics of the cytokine profile in patients with a new coronavirus infection with chronic hepatitis C

Elizaveta I. Temnik, Dmitrii Yu. Konstantinov, Larisa L. Popova
Samara State Medical University (Samara, Russian Federation)

Abstract

Aim – to assess individual cytokine profile parameters in patients with new coronavirus infection combined with chronic hepatitis C (CHC), depending on the severity of COVID-19 and liver fibrosis.

Material and methods. A comparative study involved 147 patients, whose laboratory and instrumental examination data was analyzed. The first group included patients with COVID-19 and CHC; the second group consisted of 81 patients with COVID-19, and the third group included 94 patients with CHC. The patients in the first and second groups were divided into subgroups based on the severity of COVID-19, as well as the degree of liver fibrosis.

Results. It was established that in 73% of patients with a concurrent COVID-19 infection and CHC, the levels of several cytokines during the height of

COVID-19 disease were higher than in CHC patients without COVID-19. The values of certain cytokines significantly differed from those of patients with COVID-19, regardless of the severity of the disease. It was also noted that in CHC patients with severe COVID-19 progression, the levels of certain cytokines were higher than in patients with COVID-19 alone. In the group of patients with concurrent COVID-19 and CHC, an increase in the values of certain cytokines was observed as liver fibrosis progressed.

Keywords: COVID-19, chronic hepatitis C, cytokines.

Conflict of interest: nothing to disclose.

Citation

Temnik EI, Konstantinov DY, Popova LL. Characteristics of the cytokine profile in patients with a new coronavirus infection with chronic hepatitis C. Science and Innovations in Medicine. 2024;9(4):278-283.
DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM625305>

Information about authors

Elizaveta I. Temnik – assistant of the Department of Infectious Diseases with Epidemiology.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4283-1481>

E-mail: elizabeth_temnik@outlook.com

Dmitrii Yu. Konstantinov – PhD, Associate professor, Head of the Department of Infectious Diseases with Epidemiology.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6177-8487>

E-mail: d.u.konstantinov@samsmu.ru

Larisa L. Popova – PhD, Professor, Department of Infectious Diseases with Epidemiology.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0549-361X>

E-mail: l.l.popova@samsmu.ru

Corresponding Author

Larisa L. Popova

Address: Samara State Medical University, 165b Karl Marx ave., Samara, Russia, 443079.

E-mail: l.l.popova@samsmu.ru

Received: 26.12.2023

Accepted: 06.03.2024

Published: 28.04.2024

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время сохраняется актуальность новой коронавирусной инфекции COVID-19 в связи с повторными волнами повышенной заболеваемости (на ноябрь 2023 года 10163,9 случая на 100 тыс. в мире)¹. Кроме того, несмотря на современные способы лечения, регистрируются тяжелые формы болезни, особенно в определенных группах пациентов [1–5]. Одной из таких особых групп являются больные хроническим гепатитом С (ХГС). Широкая и повсеместная распространенность ХГС (71 млн в мире), тяжесть исходов (цирроз печени и гепатоцеллюлярная карцинома) и высокая летальность (более 400 тыс. в год) подтверждают актуальность изучения этой группы пациентов².

Известно, что тяжесть течения COVID-19 обусловлена возникновением дисрегуляции в системе цитокинов, развитием так называемого «цитокинового шторма»³. Люди, инфицированные вирусом гепатита С, – это особые пациенты, имеющие дисбаланс иммунореактивности, при этом нарушение цитокинового спектра ассоциировано со степенью воспаления и прогрессированием фиброза печени [6, 7]. Изучению содержания цитокинов у пациентов при сочетании COVID-19 и ХГС посвящены единичные работы, и выводы их неоднозначны [8–11].

ЦЕЛЬ

Изучение параметров цитокинового профиля у пациентов с новой коронавирусной инфекцией в сочетании с хроническим гепатитом С в зависимости от степени тяжести COVID-19 и степени выраженности фиброза печени.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведено сравнительное исследование лабораторных и инструментальных данных пациентов трех групп (первая и вторая группы – основные, третья – контрольная). Первая группа – пациенты с COVID-19 и ХГС (n = 147). Вторая группа – пациенты только с COVID-19 (n = 81). Третья группа – пациенты с ХГС (n = 94). Пациенты первой и второй групп были разделены на две подгруппы в зависимости от степени тяжести COVID-19: подгруппа А – средняя степень тяжести, подгруппа Б – тяжелое течение. Также пациенты первой и третьей групп были разделены на три подгруппы в зависимости от степени выраженности фиброза печени: первая подгруппа (F1) – слабый фиброз, вторая подгруппа (F2) – умеренный фиброз, третья подгруппа (F3) – тяжелый фиброз. Общие характеристики пациентов представлены в таблице 1.

Критерии включения в исследование: минимальный возраст 18 лет, подтвержденный диагноз (качественная полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией [ОТ-кПЦР] на выявление РНК SARS-CoV-2 в образцах, полученных из назальных и назофарингеальных мазков) и обнаружение РНК ВГС в крови методом ПЦР на гепатит С.

Признак		Группы сравнения					P
		1 группа (n = 147)		2 группа (n = 81)		3 группа (n = 94)	
		(A1)	(Б1)	(A2)	(Б2)		
Пол	Мужчины, абс. (%)	31 (53,45)	27 (46,55)	18 (58,06)	13 (41,94)	49	0,995
	Женщины, абс. (%)	48 (53,93)	41 (46,07)	29 (58,00)	21 (42,00)	45	
Возраст (годы)		57,0 (45,0; 63,0)		61,0 (50,0; 66,0)		56,55 (38,0; 62,0)	p ₁₋₂ 0,088 p ₁₋₃ 0,076 p ₂₋₃ 0,096
ИМТ		25,97 (24,13–28,39)		27,06 (24,21–32,98)		20,54 (17,87–25,37)	0,029
F1, %		43 (29,25%)		-		32 (34,04%)	0,731
F2, %		58 (39,46%)		-		34 (36,17%)	
F3, %		46 (31,29%)		-		28 (29,79%)	
ПЦР РНК HCV, Ме/мл		4530000 (38000; 6720000)		-		5100000 (37500; 7100000)	0,985

Примечания: А1 – COVID-19 + ХГС среднетяжелая, Б1 – COVID-19 + ХГС тяжелая; А2 – COVID-19 среднетяжелая; Б2 – COVID-19 тяжелая; статистическая значимость различий (р): p₁₋₂ – между первой и второй группами, p₁₋₃ – между первой и третьей группами, p₂₋₃ – между второй и третьей группами.

Таблица 1. Характеристика больных различными группами

Table 1. Characteristics of patients in the study groups

Степень тяжести новой коронавирусной инфекции определялась согласно действующим методическим рекомендациям. Диагноз ХГС выставлялся согласно клиническим рекомендациям Минздрава РФ. Для оценки фиброза печени использовали аппарат FibroScan FS 502 Touch ECHOSENS

Признак	Группы сравнения			Р
	1 группа (n = 147)	2 группа (n = 81)	3 группа (n = 94)	
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	5,62 (4,26; 7,24)	6,5 (5,0; 8,5)	6,30 (5,22; 7,76)	p ₁₋₂ =0,016 p ₁₋₃ =0,008 p ₂₋₃ =0,762
Лимфоциты, %	30,0 (20,0; 37,2)	27,1 (12,9)	27,3 (5,2)	p=0,193
Моноциты, %	7,0 (5,0; 9,0)	7,0 (5,0; 9,0)	8,0 (5,0; 9,0)	p=0,808
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	255,0 (195,0; 342,0)	321,1 (233,5; 370,5)	280,0 (212,0; 349,0)	p ₁₋₂ =0,008 p ₁₋₃ =0,429 p ₂₋₃ =0,012
АЛТ, Е/л	82,12 (48,00; 117,65)	35,50 (27,44; 56,54)	50,3 (30,8; 115,6)	p ₁₋₂ =0,000 p ₁₋₃ =0,100 p ₂₋₃ =0,000
СРБ, мг/мл	140,6 (97,8; 186,6)	98,6 (48,9; 147,0)	4,0 (3,6; 4,2)	p ₁₋₂ =0,000 p ₁₋₃ =0,000 p ₂₋₃ =0,000
КФК, Е/л	638,4 (470,0; 1115,0)	610,5 (449,5; 833,8)	98,6 (40,9; 125,6)	p ₁₋₂ =0,994 p ₁₋₃ =0,000 p ₂₋₃ =0,000
Ферритин, нг/мл	1103,1 (402,3)	924,0 (678,9; 1193,0)	140,6 (68,8; 267,0)	p ₁₋₂ =0,022 p ₁₋₃ =0,000 p ₂₋₃ =0,000
КТ1 (< 25% объема)	9 (6,12%)	4 (4,94%)	-	p=0,013
КТ2 (25–50% объема)	131 (89,12%)	65 (80,25%)	-	
КТ3 (50–75% объема)	5 (3,40%)	12 (14,81%)	-	
КТ4 (75+% объема)	2 (1,36%)	0 (0%)	-	

Примечания. Статистическая значимость различий (р): p₁₋₂ – между первой и второй группами, p₁₋₃ – между первой и третьей группами, p₂₋₃ – между второй и третьей группами.

Таблица 2. Характеристика результатов лабораторного и инструментального обследования пациентов различных групп

Table 2. The laboratory data and lung-CT results in the study groups

¹ ФКУН РосНИПЧИ «Микроб». Эпидемиологическая обстановка и распространение COVID-19 в мире по состоянию на 8.00 мск от 19.11.2023 г.].

URL: https://www.rosпотребнадзор.ru/region/korono_virus/epid.php

² Клинические рекомендации «Хронический вирусный гепатит С». Министерство здравоохранения РФ. Год утверждения: 2021]. URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/516_2

³ Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Минздрав России, 2023].

URL: https://static0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/064/610/original/%D0%92%D0%9C%D0%A0_COVID-19_V18.pdf

Показатели (норма)	Группа 1 (n = 147)	Группа 2 (n = 81)	Группа 3 (n = 94)	p
ИЛ1β (< 5,0 пг/мл)	8,59 (8,15; 9,04)	8,71 (8,30; 9,15)	5,69 (4,47; 6,74)	p ₁₋₂ =0,067 p ₁₋₃ =0,008 p ₂₋₃ =0,000
ИЛ2 (< 5,0 пг/мл)	0,52 (0,07; 0,94)	0,05 (0,03; 0,08)	0,27 (0,13; 0,29)	p ₁₋₂ =0,000 p ₁₋₃ =0,150 p ₂₋₃ =0,000
ИЛ4 (2,0–6,0 пг/мл)	11,33 (10,74; 12,09)	11,55 (0,79)	9,71 (9,00; 18,72)	p ₁₋₂ =0,179 p ₁₋₃ =0,000 p ₂₋₃ =0,000
ИЛ6 (5,0–15,0 пг/мл)	13,93 (11,84; 14,98)	15,97 (1,26)	9,36 (4,98; 13,27)	p ₁₋₂ =0,000 p ₁₋₃ =0,000 p ₂₋₃ =0,000
ИЛ10 (< 31 пг/мл)	90,12 (87,27; 94,37)	89,5 (5,7)	39,00 (35,27; 56,98)	p ₁₋₂ =0,271 p ₁₋₃ =0,000 p ₂₋₃ =0,000
ИФН-γ (0–9,5 пг/мл)	11,96 (10,94; 12,92)	11,73 (10,84; 12,69)	5,82 (2,05; 6,23)	p ₁₋₂ =0,353 p ₁₋₃ =0,000 p ₂₋₃ =0,000
ФНОα (0–16,0 пг/мл)	24,40 (22,26; 25,84)	23,64 (22,13; 25,72)	24,87 (22,17; 27,58)	0,183

Таблица 3. Отдельные показатели цитокинового спектра у больных различных групп

Table 3. The cytokine range in patients of the study groups

Показатели	Значения показателей у больных по степени тяжести				p
	1 группа		2 группа		
	A1 n = 79	B1 n = 68	A2 n = 47	B2 n = 34	
ИЛ1β, пг/мл	8,30 (7,95; 9,00)	8,72 (8,47; 9,10)	8,69 (8,26; 9,15)	8,92 (8,33; 9,27)	p _{A1-B1} =0,000 p _{A1-A2} =0,007 p _{A2-B2} =0,230 p _{B1-B2} =0,921
ИЛ2, пг/мл	0,54 (0,06; 0,88)	0,51 (0,07; 1,19)	0,06 (0,03; 0,08)	0,04 (0,03; 0,07)	p _{A1-B1} =0,151 p _{A1-A2} =0,000 p _{A2-B2} =0,078 p _{B1-B2} =0,000
ИЛ4, пг/мл	11,32 (10,73; 11,96)	11,42 (10,82; 12,36)	11,47 (11,01; 12,21)	11,52 (0,94)	p _{A1-B1} =0,222 p _{A1-A2} =0,102 p _{A2-B2} =0,893 p _{B1-B2} =0,793
ИЛ6, пг/мл	13,88 (11,65; 14,75)	14,03 (11,94; 15,02)	16,03 (15,23; 17,26)	15,80 (1,29)	p _{A1-B1} =0,295 p _{A1-A2} =0,000 p _{A2-B2} =0,313 p _{B1-B2} =0,000
ИЛ10, пг/мл	91,01 (86,35; 95,95)	89,12 (87,35; 92,62)	91,59 (87,27; 95,95)	86,90 (5,91)	p _{A1-B1} =0,224 p _{A1-A2} =0,659 p _{A2-B2} =0,001 p _{B1-B2} =0,001
ИФН-γ, пг/мл	12,20 (11,31; 13,00)	11,68 (10,68; 12,52)	12,35 (11,36; 12,92)	10,72 (9,07; 12,47)	p _{A1-B1} =0,014 p _{A1-A2} =0,983 p _{A2-B2} =0,000 p _{B1-B2} =0,094
ФНОα, пг/мл	24,70 (22,26; 25,89)	24,25 (22,24; 25,81)	23,16 (21,91; 25,45)	24,98 (22,39; 26,34)	p _{A1-B1} =0,852 p _{A1-A2} =0,154 p _{A2-B2} =0,122 p _{B1-B2} =0,392

Примечания: A1 – COVID-19 + ХГС средней степени тяжести; B1 – COVID-19 + ХГС тяжелой степени тяжести; A2 – COVID-19 средней степени тяжести; B2 – COVID-19 тяжелой степени тяжести; статистическая значимость различий (p): p_{A1-B1} – между подгруппами со средним и тяжелым течением COVID-19 + ХГС, p_{A1-A2} – между подгруппами COVID-19 + ХГС и COVID-19 при среднетяжелом течении, p_{A2-B2} – между подгруппами со средним и тяжелым течением COVID-19, p_{B1-B2} – между подгруппами COVID-19 + ХГС и COVID-19 при тяжелом течении.

Таблица 4. Показатели цитокинового профиля у больных первой и второй групп в зависимости от степени тяжести заболевания (M±SD)

Table 4. Cytokine profile in patients with COVID-19+HCV and COVID-19, depending on the severity of the disease (M ± SD)

(Франция). В образцах крови были исследованы показатели гемограммы, проведен биохимический анализ. Концентрация цитокинов измерялась методом твердофазного иммунофлюоресцентного анализа (ИФА) при помощи тест-систем «Вектор-Бест». Математический анализ проводился

с помощью критерия Манна – Уитни, коэффициента корреляции Спирмена, а также был проведен однофакторный дисперсионный анализ ANOVA, при этом достоверными считали межгрупповые различия при p < 0,05. В таблицах результаты исследования представлены в виде медианы (Me) и межквартильного размаха (Q25–Q75). Для статистического анализа использовали IBM.SPSS.Statistics.26.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты статистического анализа данных общеклинического и инструментального обследования пациентов в группах наблюдения представлены в **таблице 2**.

Пациенты первой группы по сравнению со второй группой имели более низкие показатели лейкоцитов (p = 0,008), тромбоцитов (p = 0,008) и более высокие АЛТ (p = 0,000), СРБ (p = 0,000). Показатели КФК и ферритина статистически значимо были повышены у пациентов первой и второй групп по сравнению с третьей группой (p = 0,000 и p = 0,000).

Для оценки цитокинового профиля был проведен сравнительный анализ полученных данных у больных обследуемых групп. Данные представлены в **таблице 3**.

Во всех группах пациентов было выявлено изменение большинства параметров цитокинового спектра (ЦС) сыроворотки крови. В первой группе уровень ИЛ1β (p = 0,000) был ниже, а значения ИЛ4 (p = 0,000), ИЛ6 (p = 0,000), ИЛ10 (p = 0,000) и ИФНγ (p = 0,000) выше по сравнению с третьей группой. У больных первой группы наблюдались более высокие показатели ИЛ2 (p = 0,000) и более низкие значения ИЛ6 (p = 0,000) по сравнению с пациентами второй группы.

Анализ параметров цитокинового спектра у пациентов из первой и второй групп представлен в **таблице 4**.

В подгруппе A1 уровень ИЛ1β (p = 0,000) был ниже, чем в подгруппе B1. В подгруппе A2 наблюдались более высокие показатели ИЛ10 (p = 0,001), ИФН-γ (p = 0,000), чем в подгруппе B2. Уровни ИЛ2 (p = 0,000) были выше, а ИЛ6 (p = 0,000) ниже в подгруппе A1, чем у больных подгруппы A2. Значения ИЛ2 (p = 0,000), ИЛ10 (p = 0,001) у больных подгруппы B1 были выше, а ИЛ6 (p = 0,000) ниже, чем у пациентов подгруппы B2.

Для определения особенностей циркуляции изучаемых цитокинов больные первой группы в подгруппах со среднетяжелой и тяжелой формой болезни были распределены в зависимости от стадии фиброза печени. Сравнительная характеристика отдельных показателей цитокинового спектра в подгруппе пациентов со среднетяжелой формой COVID-19 + ХГС представлена в **таблице 5**.

Наименьшие значения ИЛ1β (p = 0,001), ИЛ4 (p = 0,001), ИЛ6 (p = 0,001), ФНО-α (p = 0,011) наблюдались у среднетяжелых больных COVID-19 + ХГС с минимальным фиброзом печени. Уровень ИЛ2 (p = 0,016) был выше у больных средней тяжести с F1 по сравнению с группой среднетяжелых пациентов F3.

Сравнительная характеристика отдельных показателей цитокинового спектра у больных с тяжелой формой COVID-19 + ХГС в зависимости от стадии фиброза печени представлена в **таблице 6**.

Уровень ИЛ2 был выше у больных с F2 по сравнению с группой пациентов F1 (p = 0,002) и F3 (p = 0,000).

Показатели (норма)	A1F1 (n = 26)	A1F2 (n = 31)	A1F3 (n = 22)	P
ИЛ1β (< 5,0 пг/мл)	6,92 (5,92;7,95)	8,92 (8,33;9,27)	8,87 (8,22;9,22)	$p_{1-2}=0,000$ $p_{1-3}=0,000$ $p_{2-3}=0,632$
ИЛ2 (< 5,0 пг/мл)	0,35 (0,04;0,98)	0,04 (0,03;0,07)	0,07 (0,03;0,09)	$p_{1-2}=0,272$ $p_{1-3}=0,016$ $p_{2-3}=0,000$
ИЛ4 (2,0–6,0 пг/мл)	10,74 (10,40;11,40)	11,56 (10,84;12,38)	11,73 (11,11;12,09)	$p_{1-2}=0,000$ $p_{1-3}=0,000$ $p_{2-3}=0,732$
ИЛ6 (5,0–15,0 пг/мл)	11,03 (10,41;12,72)	15,98 (14,92;16,78)	15,58 (14,47;16,50)	$p_{1-2}=0,000$ $p_{1-3}=0,000$ $p_{2-3}=0,000$
ИЛ10 (< 31 пг/мл)	90,36 (83,38;95,98)	87,87 (82,30;91,46)	93,18 (89,13;95,63)	0,345
ИФН-γ (0–9,5 пг/мл)	12,07 (11,05;13,92)	10,72 (9,07;12,47)	12,37 (11,48;13,12)	0,880
ФНОα (0–16,0 пг/мл)	25,68 (23,88;26,35)	24,98 (22,39;26,34)	23,27 (22,22;25,37)	$p_{1-2}=0,024$ $p_{1-3}=0,011$ $p_{2-3}=0,671$

Примечания: A1F1 – COVID-19 + ХГС средней степени тяжести, слабо выраженный фиброз F1; A1F2 – COVID-19 + ХГС средней степени тяжести, умеренный фиброз F2; A1F3 – COVID-19 + ХГС средней степени тяжести, выраженный фиброз F3; статистическая значимость различий (p): p_{1-2} – между подгруппами со слабо выраженным и умеренным фиброзом печени у пациентов со среднетяжелым течением COVID-19 + ХГС, p_{1-3} – между подгруппами со слабо выраженным и выраженным фиброзом печени у пациентов со среднетяжелым течением COVID-19 + ХГС, p_{2-3} – между подгруппами с умеренным и выраженным фиброзом печени у пациентов со среднетяжелым течением COVID-19 + ХГС.

Таблица 5. Сравнение показателей цитокинового спектра в подгруппе пациентов со среднетяжелым течением COVID-19 + ХГС с различной выраженностью фиброза печени

Table 5. Comparison of cytokine range in mild COVID-19 + HCV subgroup, based on the liver fibrosis

Показатели (норма)	B1F1 (n = 26)	B1F2 (n = 31)	B1F3 (n = 22)	P
ИЛ1β (< 5,0 пг/мл)	8,72 (8,48; 9,03)	8,73 (8,48; 9,08)	8,72 (8,30; 9,32)	0,872
ИЛ2 (< 5,0 пг/мл)	1,24 (0,81; 1,57)	0,30 (0,04; 0,89)	0,08 (0,07; 0,09)	$p_{1-2}=0,002$ $p_{1-3}=0,088$ $p_{2-3}=0,000$
ИЛ4 (2,0–6,0 пг/мл)	10,64 (10,44; 10,90)	11,92 (11,26; 12,51)	11,94 (11,16; 12,44)	$p_{1-2}=0,000$ $p_{1-3}=0,000$ $p_{2-3}=0,865$
ИЛ6 (5,0–15,0 пг/мл)	13,80 (11,74; 14,39)	12,71 (11,08; 13,47)	15,37 (14,89; 17,03)	$p_{1-2}=0,106$ $p_{1-3}=0,000$ $p_{2-3}=0,000$
ИЛ10 (< 31 пг/мл)	87,96 (86,22;89,25)	90,32 (87,56; 93,86)	90,40 (87,55;94,53)	$p_{1-2}=0,017$ $p_{1-3}=0,019$ $p_{2-3}=0,843$
ИФН-γ (0–9,5 пг/мл)	7,49 (5,99;10,49)	12,35 (11,66; 13,07)	11,86 (11,31; 12,98)	$p_{1-2}=0,000$ $p_{1-3}=0,000$ $p_{2-3}=0,274$
ФНОα (0–16,0 пг/мл)	24,25 (22,34; 24,99)	24,40 (22,85; 26,28)	23,61 (21,99; 25,51)	0,585

Примечания: B1F1 – COVID-19 + ХГС тяжелой степени тяжести, слабо выраженный фиброз F1; B1F2 – COVID-19 + ХГС тяжелой степени тяжести, умеренный фиброз F2; B1F3 – COVID-19 + ХГС тяжелой степени тяжести, выраженный фиброз F3; статистическая значимость различий (p): p_{1-2} – между подгруппами со слабо выраженным и умеренным фиброзом печени у пациентов с тяжелым течением COVID-19 + ХГС, p_{1-3} – между подгруппами со слабо выраженным и выраженным фиброзом печени у пациентов с тяжелым течением COVID-19 + ХГС, p_{2-3} – между подгруппами с умеренным и выраженным фиброзом печени у пациентов с тяжелым течением COVID-19 + ХГС.

Таблица 6. Сравнение показателей цитокинового спектра в подгруппе пациентов с тяжелым течением COVID-19 + ХГС с различной выраженностью фиброза печени

Table 6. Comparison of cytokine range indicators in severe COVID-19 + HCV subgroup, based on the liver fibrosis

Наименьшие значения ИЛ4 ($p = 0,000$) и ИФН-γ ($p = 0,000$) наблюдались у тяжелых больных COVID-19 + ХГС с минимальным фиброзом печени. Наибольшие показатели ИЛ6 ($p = 0,000$) наблюдались у тяжелых больных COVID-19 + ХГС с выраженным фиброзом печени.

■ ОБСУЖДЕНИЕ

В проведенном нами исследовании проанализирован характер изменений цитокинового спектра у больных COVID-19 в сочетании с ХГС в период разгара новой коронавирусной инфекции в зависимости от степени тяжести COVID-19 и выраженности фиброза печени.

Мы выявили несколько ключевых особенностей. У больных первой и второй групп по сравнению с пациентами третьей группы мы установили в разгаре заболевания повышение изучаемых показателей цитокинового спектра (ИЛ1β, ИЛ2, ИЛ4, ИЛ6, ИЛ10, ИФН-γ). При этом уровень отдельных цитокинов в первой группе больных был значимо выше (ИЛ2) или ниже (ИЛ6), чем у больных второй группы.

В исследовании F.J.F. León и соавт. (2022) также отмечают снижение средних значений ИЛ6 и ФНОα у больных COVID-19 + ХГС по сравнению с больными COVID-19 [8]. О возможной связи между нарушением баланса цитокинов и прогнозом более тяжелого течения COVID-19 у определенных групп пациентов указано в работе J. Kim и соавт. (2021) [1]. Однако S. Vucurica и соавт. (2023), напротив, отмечают повышение уровня ИЛ6 и ИЛ17 у пациентов с сочетанной инфекцией COVID-19 и ХГС по сравнению с пациентами COVID-19 [10]. K. Shirley и соавт. (2022) высказывают гипотезу о взаимосвязи более тяжелого течения COVID-19 у больных с сочетанием ХГС при наличии повышенного уровня провоспалительных цитокинов [11]. В ряде исследований высокие уровни ИЛ6 зафиксированы у больных с меньшим поражением легких при COVID-19 [12]. Более низкая концентрация ИЛ6 у больных COVID-19 + ХГС по сравнению с больными COVID-19 может быть объяснена усилением действия противовоспалительных цитокинов (ИЛ4, ИЛ10), которые подавляют выработку моноцитами / макрофагами провоспалительных цитокинов (ИЛ6) [13, 14].

Изменение содержания отдельных цитокинов зависело от степени тяжести COVID-19 и стадии фиброза печени. Мы установили повышение уровня ИЛ6 у тяжелых больных COVID-19 + ХГС по мере прогрессирования фиброза печени. Концентрация ИЛ6 в сыворотке крови больных ХГС отражает степень повреждения ткани печени. Ряд исследователей отмечает соответствие повышенного уровня ИЛ6 в крови со степенью воспаления в печеночной ткани. По данным Л.Л. Поповой и соавт. (2012), у больных ХГС установлено достоверное повышение в сыворотке крови уровня ФНОα, ИЛ-4 и ИФНγ, однако связи между исследованными цитокинами и индексом фиброза печени выявлено не было [15]. Исследование D. Baskic и соавт. (2019) показало, что по мере прогрессирования фиброза печени при ХГС наблюдалось снижение концентрации почти всех основных цитокинов, включая ИЛ1β, ФНОα, ИЛ2, ИЛ4, кроме ИЛ6 [16].

В проведенном исследовании при выраженном фиброзе печени у больных независимо от степени тяжести COVID-19 наблюдалось снижение концентрации ИЛ2 и повышение концентрации ИЛ4. В литературе описана способность ИЛ4 усиливать Th-2-опосредованный гуморальный иммунный ответ, синтез и секрецию IgG активированными В-лимфоцитами, подавлять освобождение провоспалительных цитокинов (TNFα, IL-1, IL-8)

[17]. В некоторых исследованиях показано стимулирующее влияние ИЛ4 на пролиферацию цитотоксических Т-лимфоцитов и повышение его концентрации у больных COVID-19 + ХГС по мере прогрессирования фиброза печени.

Таким образом, в проведенном нами исследовании у больных COVID-19 в сочетании с ХГС в разгаре заболевания новой коронавирусной инфекцией для отдельных показателей цитокинового спектра (ИЛ1 β , ИЛ2, ИЛ6 и ИЛ10) зарегистрировано статистически значимое изменение их содержания в зависимости от степени тяжести COVID-19 и выраженности фиброза печени по сравнению с их уровнем при каждой инфекции в отдельности.

■ ВЫВОДЫ

1. У 73% пациентов с сочетанием COVID-19 и ХГС в разгаре новой коронавирусной инфекции установлено

повышение уровня ИЛ1 β , ИЛ2, ИЛ4, ИЛ6, ИЛ10, ИФН- γ , ФНО α относительно аналогичных показателей у больных ХГС без COVID-19; при этом значения ИЛ2 и ИЛ6 значимо отличались от показателей больных COVID-19 вне зависимости от степени тяжести заболевания.

2. У больных с сочетанием COVID-19 и ХГС при тяжелом течении новой коронавирусной инфекции значения цитокинов ИЛ2, ИЛ10, а при среднетяжелом течении – ИЛ1 β регистрировались на более высоком уровне, чем у больных COVID-19.

3. В группе больных с сочетанием COVID-19 и ХГС по мере прогрессирования фиброза печени отмечено повышение значений: при среднетяжелом течении – ИЛ1 β , ФНО α , при тяжелом течении – ИЛ2, ИЛ10, ИФН- γ и независимо от степени тяжести заболевания – ИЛ4 и ИЛ6. ■

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ	ADDITIONAL INFORMATION
Источник финансирования. Работа выполнена по инициативе авторов без привлечения финансирования.	Study funding. The study was the authors' initiative without external funding.
Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием настоящей статьи.	Conflict of Interest. The authors declare that there are no obvious or potential conflicts of interest associated with the content of this article.
Участие авторов. Е.И. Темник – сбор и обработка научного материала, написание текста; Д.Ю. Константинов, Л.Л. Попова – разработка концепции исследования, редактирование текста. Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.	Contribution of individual authors. E.I. Temnik – has been responsible for scientific data collection, its systematization and analysis, wrote the first draft of the manuscript. D.Yu. Konstantinov, L.L. Popova – developed the study concept, performed detailed manuscript editing and revision. All authors gave their final approval of the manuscript for submission, and agreed to be accountable for all aspects of the work, implying proper study and resolution of issues related to the accuracy or integrity of any part of the work.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Kim JS, Lee JY, Yang JW, et al. Immunopathogenesis and treatment of cytokine storm in COVID-19. *Theranostics*. 2021;11(1):316-329. DOI: <https://doi.org/10.7150/thno.49713>
- Gorelov AV, Ploskireva AA, Muzyka AD. The evolution of the clinical and pathogenetic features of the coronavirus infection Covid-19. *RMJ. Russian Medical Journal*. 2022;6(11):626-634. [Горелов А.В., Плоскирева А.А., Музыка А.Д. Эволюция клинкопатогенетических особенностей коронавирусной инфекции COVID-19. *РМЖ. Медицинское обозрение*. 2022;6(11):626-634]. DOI: <https://doi.org/10.32364/2587-6821-2022-6-11-626-634>
- Demina IA, Komarova AG, Il'ina MV, et al. Clinical features of coronavirus infection COVID-19 in patients with arterial hypertension. *Lechashchii vrach*. 2022;4:54-59. (In Russ.). [Демина И.А., Комарова А.Г., Ильина М.В., и др. Клинические особенности коронавирусной инфекции COVID-19 у пациентов с артериальной гипертензией. *Лечащий врач*. 2022;4:54-59]. DOI: <https://doi.org/10.51793/OS.2022.25.4.010>
- Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons from the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*. 2020;323(13):1239-1242. DOI: <https://doi.org/10.1001/jama.2020.2648>

- Zhou X, Ye Q. Cellular Immune Response to COVID-19 and Potential Immune Modulators. *Frontiers in Immunology*. 2021;12. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.646333>
- Gonik MI, Bueverova EL, Bueverov AO. Hyperferritinemia, chronic hepatitis C and COVID-19: what do they have in common? *Medical Council*. 2023;17(8):150-157. [Гоник М.И., Бугверова Е.Л., Бугверов А.О. Гиперферритинемия, хронический гепатит С и COVID-19: что общего? *Медицинский совет*. 2023;17(8):150-157]. DOI: <https://doi.org/10.21518/ms2023-142>
- Han Z, Huang T, Deng Y, et al. Expression profile and kinetics of cytokines and chemokines in patients with chronic hepatitis C. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8:17995-18003. PMID: 26770394
- León FJF, da Silva LL, Santos AC et al. Immunological and virological aspects of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and hepatitis C virus. *J Med Virol*. 2022;94:2296-2301. DOI: <https://doi.org/10.1002/jmv.27614>
- Ronderos D, Omar AMS, Abbas H, et al. Chronic hepatitis-C infection in COVID-19 patients is associated with in-hospital mortality. *World J Clin Cases*. 2021;9(29):8749-8762. DOI: <https://doi.org/10.12998/wjcc.v9.i29.8749>
- Bucurica S, Ionita Radu F, Bucurica A, et al. Risk of New-Onset Liver Injuries Due to COVID-19 in Preexisting Hepatic Conditions – Review of the Literature. *Medicina*. 2023;59:62. DOI: <https://doi.org/10.3390/medicina59010062>

11. Shirley K, Loftis JM. A spotlight on HCV and SARS-CoV-2 co-infection and brain function. *Pharmacol Biochem Behav.* 2022;217:173403. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2022.173403>
12. Blanco-Melo D, Nilsson-Payant BE, Liu WC, et al. Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives Development of COVID-19. *Cell.* 2020;181(5):1036-1045.e9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.026>
13. Ferreira J, Oliveira M, Bicho M, et al. Role of Inflammatory/Immune Response and Cytokine Polymorphisms in the Severity of Chronic Hepatitis C (CHC) before and after Direct Acting Antiviral (DAAs) Treatment. *Int J Mol Sci.* 2023;24(2):1380. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms24021380>
14. Chen X, Liu X, Duan S, et al. Plasma Inflammatory Biomarkers Associated with Advanced Liver Fibrosis in HIV-HCV-Coinfected Individuals. *Int J Environ Res Public Health.* 2020;17(24):9474. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph17249474>
15. Konstantinov DYU, Popova LL, Konstantinova E.A. *Modern aspects of HCV infection. Serum cytokine system in the treatment of chronic hepatitis.* Samara, 2015. (In Russ.). [Константинов Д.Ю., Попова Л.Л., Константинова Е.А. *Современные аспекты HCV-инфекции. Система сывороточных цитокинов при лечении хронического гепатита.* Самара, 2015].
16. Baskic D, Vukovic V, Popovic S, et al. Chronic Hepatitis C: Conspectus of immunological events in the course of fibrosis evolution. *PLoS ONE.* 2019;14(7):e0219508. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219508>
17. Panova MS, Panchenko AS. The role of cytokines and their genetic polymorphism in the development of hypoxic-ischemic encephalopathy among full-term newborn children. *Pediatrician.* 2017;8(6):99-104. [Панова М.С., Панченко А.С. Роль цитокинов и их генетического полиморфизма в развитии гипоксически-ишемической энцефалопатии у доношенных новорожденных детей. *Педиатр.* 2017;8(6):99-104]. DOI: <https://doi.org/10.17816/PED8699-104>

Оригинальное исследование | Original study article
DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM636947>

 This work is licensed under CC BY 4.0
© Authors, 2024

Automatic segmentation of demyelination lesions in multiple sclerosis

Aleksandr V. Zakharov¹, Igor V. Shirolapov¹, Elena V. Khivintseva¹, Mariya S. Sergeeva¹,
Natalya P. Romanchuk¹, Dmitrii A. Dedyk¹, Darya D. Melnikova¹, Arsenii M. Andreev¹,
Aleksandra I. Mavletova¹, Anton O. Shchepetov¹, Jude Hemanth²

¹Samara State Medical University (Samara, Russian Federation)

²Karunya Institute of Technology and Sciences (Coimbatore, India)

Abstract

Aim – to evaluate the effectiveness of the YOLOv8 algorithm for automatic segmentation of demyelination lesions in various locations in patients with multiple sclerosis.

Material and methods. The study included 120 patients with a clinically confirmed diagnosis of multiple sclerosis who underwent contrast-enhanced MRI. The MRI data from patients with different types of disease progression were analyzed. T1-weighted, T2-weighted, and FLAIR sequences were used for the analysis. The YOLOv8 algorithm was adapted for medical imaging and trained on manually annotated MRI scans. Model performance was evaluated using precision, recall, and F1-Score metrics.

Results. The YOLOv8 model demonstrated high segmentation performance with a precision of 0.79, recall of 0.73, and F1-Score of 0.65. The model effectively identified demyelination lesions in various locations typical

for multiple sclerosis. However, there remains a need to improve recall to minimize the missed lesions. Testing on independent data confirmed the stability of the results of the model.

Conclusion. The YOLOv8 algorithm shows significant potential for automatic segmentation of demyelination lesions in multiple sclerosis patients. This method could be successfully implemented in clinical practice, enabling faster diagnosis and improved monitoring of disease progression. Further optimization of the model, through data augmentation techniques and hybrid architectures, may enhance both segmentation accuracy and recall.

Keywords: magnetic resonance imaging, multiple sclerosis, segmentation, deep learning.

Conflict of Interest: nothing to disclose.

Citation

Zakharov AV, Shirolapov IV, Khivintseva EV, Sergeeva MS, Romanchuk NP, Dedyk DA, Melnikova DD, Andreev AM, Mavletova AI, Shchepetov AO, Hemanth J. **Automatic segmentation of demyelination lesions in multiple sclerosis.** *Science and Innovations in Medicine*. 2024;9(4):284-290.
DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM636947>

Information about authors

Aleksandr V. Zakharov – PhD, Associate professor,
Head of the Neurosciences Research Institute.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1709-6195>
E-mail: a.v.zakharov@samsmu.ru

Igor V. Shirolapov – PhD, Associate professor, Head of laboratory.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7670-6566>
E-mail: i.v.shirolapov@samsmu.ru

Elena V. Khivintseva – PhD, Associate professor of the Department of Neurology and Neurosurgery.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1878-7951>
E-mail: e.v.hivintseva@samsmu.ru

Mariya S. Sergeeva – PhD, Associate professor.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0926-8551>
E-mail: m.s.sergeeva@samsmu.ru

Natalya P. Romanchuk – PhD, MD, Associate professor, Head of the laboratory of neuromorphic systems, research institute of neurosciences.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3522-6803>
E-mail: n.p.romanchuk@samsmu.ru

Dmitrii A. Dedyk – engineer of the advanced engineering school.
ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-7902-6964>
E-mail: d.a.dedyk@samsmu.ru

Darya D. Melnikova – engineer of the advanced engineering school.
ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-6516-8216>
E-mail: d.d.melnikova@samsmu.ru

Arsenii M. Andreev – engineer of the advanced engineering school.
ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-0292-930X>
E-mail: a.m.andreev@samsmu.ru

Aleksandra I. Mavletova – engineer of the advanced engineering school.
ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-4429-7554>
E-mail: a.i.mavletova@samsmu.ru

Anton O. Shchepetov – engineer of the advanced engineering school.
ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-5925-6426>
E-mail: a.o.schepetov@samsmu.ru

Hemanth Jude – PhD, Professor.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6091-1880>
E-mail: judehemanth@karunya.edu

Corresponding author

Aleksander V. Zakharov
Address: Samara State Medical University, 89 Chapaevskaya st., Samara, Russia, 443099.
E-mail: a.v.zakharov@samsmu.ru

Received: 12.10.2024

Accepted: 01.11.2024

Published: 26.11.2024

Автоматическая сегментация очагов демиелинизации при рассеянном склерозе

А.В. Захаров¹, И.В. Широлапов¹, Е.В. Хивинцева¹, М.С. Сергеева¹, Н.П. Романчук¹, Д.А. Дедык¹,
Д.Д. Мельникова¹, А.М. Андреев¹, А.И. Мавлетова¹, А.О. Щепетов¹, Jude Hemanth²

¹ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России
(Самара, Российская Федерация)

²Институт технологий и наук Карунья (Коимбатур, Индия)

Аннотация

Цель – оценить эффективность использования алгоритма YOLOv8 для автоматической сегментации очагов демиелинизации различной локализации у пациентов с рассеянным склерозом.

Материал и методы. В исследование включены 120 пациентов с клинически достоверным диагнозом «рассеянный склероз», которым была проведена МРТ с контрастированием. Были проанализированы МРТ пациентов с различным типом течения заболевания. Для анализа использовались T1-, T2-взвешенные и FLAIR последовательности. Алгоритм YOLOv8 был адаптирован для медицинских данных и обучен на размеченных вручную МРТ-снимках. Оценка производительности модели проводилась с использованием метрик точности (Precision), полноты (Recall) и F1-мера.

Результаты. Модель YOLOv8 показала высокие результаты сегментации: точность – 0,79, полнота – 0,73, F1 мера – 0,61. Модель эффектив-

но идентифицировала очаги демиелинизации различной локализации, типичной для рассеянного склероза. Остается необходимость в повышении полноты для минимизации пропуска поражений. Тестирование на независимых данных подтвердило стабильность результатов модели.

Выводы. Алгоритм YOLOv8 демонстрирует высокий потенциал для автоматической сегментации очагов демиелинизации у пациентов с рассеянным склерозом. Данная методика может быть успешно внедрена в клиническую практику, что позволит ускорить диагностику и улучшить контроль за прогрессированием заболевания. Для дальнейшего повышения точности и полноты сегментации возможна оптимизация модели через использование методов усиления данных и гибридных архитектур.

Ключевые слова: магнитно-резонансная томография, рассеянный склероз, сегментация, глубокое обучение.

Конфликт интересов: не заявлен.

Для цитирования:

Захаров А.В., Широлапов И.В., Хивинцева Е.В., Сергеева М.С., Романчук Н.П., Дедык Д.А., Мельникова Д.Д., Андреев А.М., Мавлетова А.И., Щепетов А.О., Hemanth J. **Автоматическая сегментация очагов демиелинизации при рассеянном склерозе.** *Наука и инновации в медицине.* 2024;9(4):284-290. DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM636947>

Сведения об авторах

Захаров А.В. – канд. мед. наук, доцент, директор НИИ нейронаук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1709-6195>

E-mail: a.v.zaharov@samsmu.ru

Широлапов И.В. – канд. мед. наук, доцент, заведующий лабораторией трансляционных исследований и персонализированной медицины.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7670-6566>

E-mail: i.v.shirolapov@samsmu.ru

Хивинцева Е.В. – канд. мед. наук, доцент кафедры неврологии и нейрохирургии.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1878-7951>

E-mail: e.v.hivinceva@samsmu.ru

Сергеева М.С. – канд. биол. наук, доцент, ведущий специалист НИИ нейронаук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0926-8551>

E-mail: m.s.sergeeva@samsmu.ru

Романчук Н.П. – канд. мед. наук, доцент, заведующий лабораторией нейромоформных систем НИИ нейронаук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3522-6803>

E-mail: n.p.romanchuk@samsmu.ru

Дедык Д.А. – инженер передовой инженерной школы.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-7902-6964>

E-mail: d.a.dedyk@samsmu.ru

Мельникова Д.Д. – инженер передовой инженерной школы.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-6516-8216>

E-mail: d.d.melnikova@samsmu.ru

Андреев А.М. – инженер передовой инженерной школы.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-0292-930X>

E-mail: a.m.andreev@samsmu.ru

Мавлетова А.И. – инженер передовой инженерной школы.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-4429-7554>

E-mail: a.i.mavletova@samsmu.ru

Щепетов А.О. – инженер передовой инженерной школы.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-5925-6426>

E-mail: a.o.schepetov@samsmu.ru

Hemanth J. – профессор.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6091-1880>

E-mail: judehemanth@karunya.edu

Автор для переписки

Захаров Александр Владимирович

Адрес: Самарский государственный медицинский университет, ул. Чапаевская, 89, г. Самара, Россия, 443099.

E-mail: a.v.zaharov@samsmu.ru

Список сокращений

МРТ – магнитно-резонансная томография; ПИТРС – препараты, изменяющие течение рассеянного склероза; РС – рассеянный склероз; ЦНС – центральная нервная система; CNN – англ. convolutional neural network; EDSS – англ. Expanded Disability Status Scale; nnU-Net – англ. 'no-new-Net'; SVMs – англ. Support Vector Machines; U-сеть – англ. ultra long сеть.

Получено: 12.10.2024

Одобрено: 01.11.2024

Опубликовано: 26.11.2024

INTRODUCTION

Multiple Sclerosis, or MS, is a neuroinflammatory disease of the central nervous system (CNS) causing demyelination and neural damage. The disease brings about frequent disability among young people (aged 18-40) [1]. The progression of disability in the MS patients significantly affects social, economic and social well-being. The annual economic burden of MS in the USA is 85 Billion US Dollars. Similar data was obtained in the European Union, where average annual expenditure varies from 22,800 Euro (mild degree of the disease) to 57,500 Euro (severe degree of the disease) in terms of purchasing power parity, the direct medical expenses making up to 68% of the total expenditure [2]. Timely diagnostics is an important factor in decreasing the disability caused by the disease by early prescription of disease-modifying therapy (DMT) [3].

The diagnosis of MS is based on the 2017 McDonald diagnostic criteria [4], which provide increased diagnostic accuracy for this disease based on clinical, imaging and immunological indicators. The main thesis of these criteria is the detection of dissemination of clinical or instrumental signs in space and/or time [4].

Dissemination in space is characterized by the emergence of foci of demyelination in the following anatomic regions of the CNS: periventricular region of the brain, cortical or juxtacortical region of the brain, infratentorial region of the

brain or the spinal cord, which indicates multifocal damage. Dissemination in space may be manifested by one or several T2-hyperintensive foci characteristic of the MS, at least in two of the four regions of the CNS [5]. Dissemination in time describes the development or appearance of new foci of demyelination in the CNS over time.

A key tool for diagnosing and monitoring patients with MS and a major component of the continually updated diagnostic criteria for MS is MRI [6].

The process of identification and segmentation of lesions in MS is usually performed manually by skilled neuroradiologists; it is a labor-intensive task prone to error [6]. Therefore, a necessity exists to develop automated tools to facilitate the procedure.

At present, work on automation of segmentation of demyelination foci using machine-learning algorithms has yielded results that are impressive enough to begin implementing them into routine clinical practice [7, 8].

Many other automated methods have been developed for damage detection and segmentation. Methods such as 'k-nearest neighbor' [9, 10], Support Vector Machines (SVMs) [11, 13], Markov random fields [14, 15], 'random forest' [16, 17] or special algorithms based on intensity [18-21]. The category of deep high-level neural networks prevailed, that were most frequently represented by convolutional neural networks (CNN) in the form of U-nets [22]. A modification

of this network was proposed, the nnU-Net [23], a method that automatically sets up pre-processing stages, architecture, training and post-processing for improved adaptation to the properties of the data set and available equipment.

Thus, in the majority of present studies, the automatic segmentation of the MRI data uses deep learning algorithms with the U-net architecture [24] in its 2D and 3D modifications [25].

Despite the continuously accumulating MRI data, it has not yet been possible to effectively solve the task of obtaining quality and stable metrics of segmentation algorithm performance for them to be used in clinical practice. Therefore, individual groups of researchers continue looking for the optimal architectures of neural networks, pre-processing of MRI data, synthetic data [26], and use of several architectures or approaches for their training [27, 28].

Identification and segmentation of the new foci of MS remain highly challenging tasks. At present, automatic methods may be more sensitive for the identification of new lesions but yield more false positives when compared to manual segmentation by radiologists experienced in evaluating the MS patients' MRI data [8].

■ AIM

Use the new deep learning algorithm YOLOv8 to identify demyelination foci in the subcortical, infratentorial, periventricular and juxtacortical localizations, and to calculate the volume of the same.

■ MATERIAL AND METHODS

The study was approved by the Ethics Committee of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Samara State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation (Protocol No. 52 dated 12.12.2023).

The study included 120 patients with active stable progression of the MS diagnosed in compliance with 2017 McDonald diagnostic criteria [4]. The average age of patients was 35.7 ± 10.2 years, and the gender distribution was even. The disease activity was established based on the availability of one exacerbation within the past year or two exacerbations within the past two years in patients with relapsing-remitting MS and secondary progressive MS with exacerbations. In patients with primary progressive course of the disease, its activity was established by the progress of the disease within the past year. In patients with the stable course of the disease, there were no exacerbations or worsening of the disease during the specified period of time [4]. In patients with the active course of the disease, there was observed an increase of neurological deficiency by at least 2 points in one of the functional scales (e.g., visual, brainstem, pyramidal, sensory, coordination) or by at least 1 point in two functional systems. Progression of disability could also be seen on the EDSS scale (Expanded Disability Status Scale) [29]: increase by at least 1 point if the initial EDSS score was below 4.0 points, or increase by at least 0.5 points if the initial EDSS score was 4.0 and above [30]. In patients with a progressive course, an increase in neurological deficit by 1 point on the EDSS scale was observed [4]. Neurological examination and EDSS [31] assessment were performed by a certified neurologist

EDSS (functional systems)							
Visual	Brainstem	Pyramidal	Cerebellar	Sensory	Bowel and bladder	Cerebral functions	Балл EDSS
EDSS score	0-3 (1)	1-4 (2)	0-4 (2)	0-3 (1)	0-3 (1)	0-2 (1)	1.0-7.0 (3.0)

Note: average values (min.-max.).

Table 1. EDSS scores of patients with MS

Таблица 1. Показатели баллов по шкале EDSS пациентов с РС

with more than 10 years of experience in treating patients with multiple sclerosis. The neurological status of patients according to the EDSS scale is presented in Table 1.

In 18 patients, an active course of relapsing-remitting MS was observed, in 68 patients, no activity was observed over the past two years, 30 patients had a secondary-progressive course with exacerbations, and the remaining 4 patients had a primary-progressive course of the disease.

The study was conducted using a magnetic resonance imaging (MRI) scanner with a magnetic field strength of 1.5 T. To improve visualization of active demyelination foci, a gadolinium-based contrast agent was administered intravenously.

The MRI protocol for the evaluation of the demyelination foci included the following sequences: T1-weighted images (T1WI) were taken before and after administering of the contrast to identify the active foci and evaluate the accumulation of the contrast; T2-weighted images (T2WI) were used to identify the chronic and new foci of demyelination due to high sensitivity to changes in the tissue structure; FLAIR (Fluid Attenuated Inversion Recovery) was used to attenuate the signal from the fluid and better identification of hyper-intensive foci in the white substance, specifically in the vicinity of the cerebral ventricles; DWI (Diffusion Weighted Imaging) was used to evaluate water diffusion in the tissues and to differentiate the active foci from the chronic ones; PD-weighted images (Proton Density) were used for an additional characterization of demyelinated zones and their differentiation from the normal tissue.

■ RESULTS AND DISCUSSION

YOLOv8 neural network was used to segment MRI images in patients with MS. YOLOv8 (You Only Look Once, version 8) is the latest iteration of the YOLO family of models designed for real-time object detection and segmentation tasks. This architecture is characterized by high processing speed and prediction accuracy, which makes it suitable for medical image analysis, where not only accuracy is important, but also the efficiency of processing large volumes of data when detecting several classes of objects simultaneously. In our study, foci of demyelination were subcortical, juxtacortical, periventricular and infratentorial localizations.

This study uses the YOLOv8 architecture with modifications intended for improvement of performance on medical data. The model was initially trained on a large set of images (ImageNet) with further training on a specialized dataset consisting of MS patients' marked-up MRI scans. The images included several MRI sequences (T1-weighted,

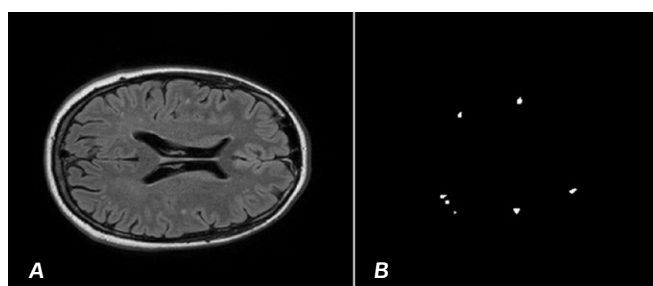


Figure 1. A – MRI T2 mode with a focus of demyelination. B – “mask” of demyelination foci obtained as a result of segmentation by a radiologist.

Рисунок 1. А – МРТ T2 режим с очага демиелинизации. В – «маска» очагов демиелинизации, полученная в результате сегментации врачом-радиологом.

T2-weighted, FLAIR), which ensured a better representation of lesion morphology.

The architecture of the model includes the following blocks:

1. Backbone: this block uses a modified version of CSPNet (Cross Stage Partial Network) to extract signs from various levels of abstraction. CSPNet divides the data flow into two

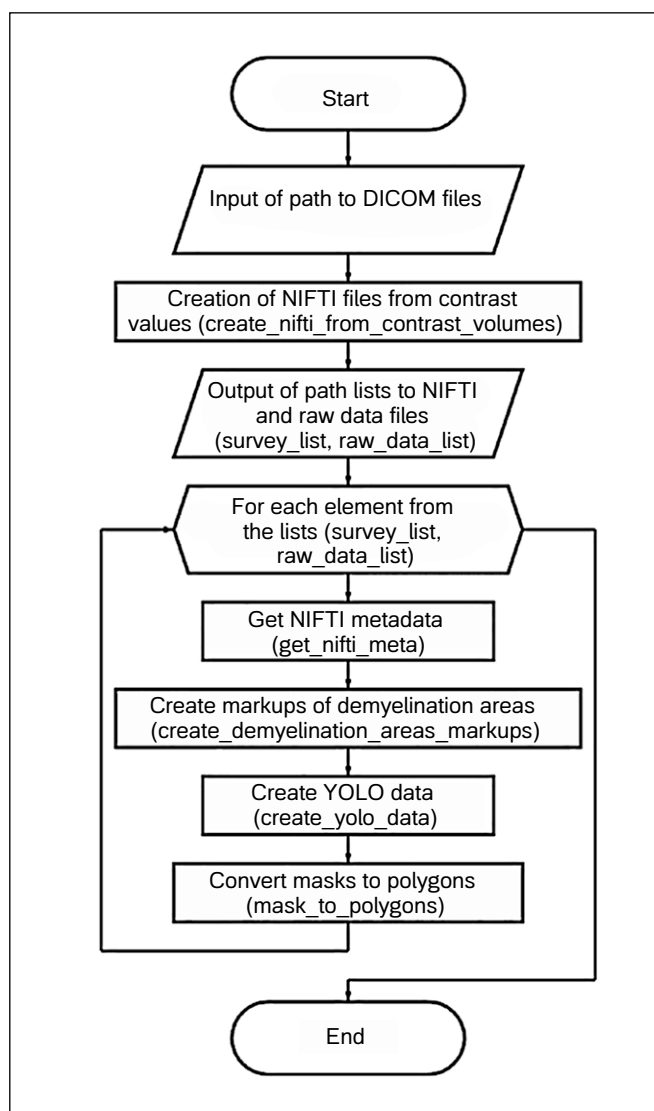


Figure 2. Flowchart of the algorithm for creating a training sample.

Рисунок 2. Блок-схема алгоритма создания обучающей выборки.

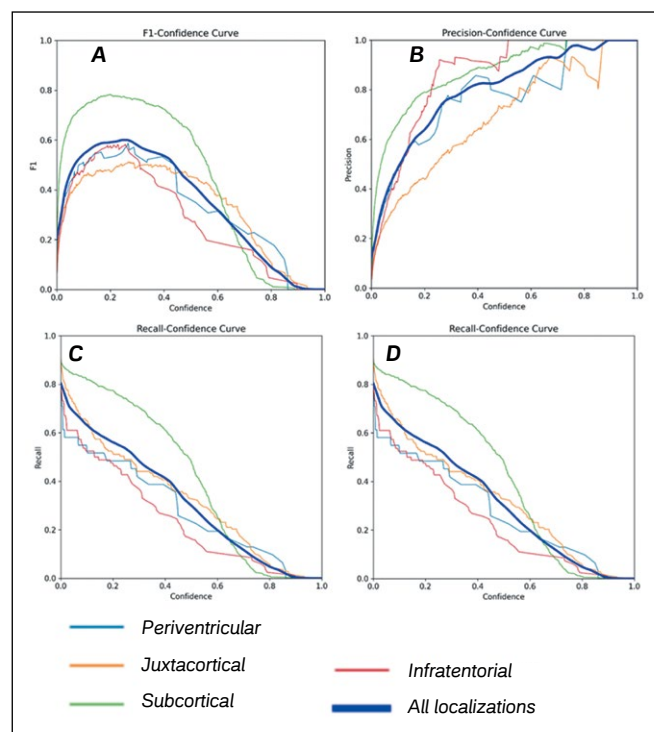


Figure 3. Metrics characterizing the quality of the model obtained on the test sample. A – function of the F1 graph from the Confidence argument; B – graph of the function Accuracy versus the argument Confidence; C – graph function Confidence from the argument Recall; D – graph function Precision by argument Recall.

Рисунок 3. Метрики, характеризующие качество модели, полученной на тестовой выборке. А – график функции F1 от аргумента Confidence; В – график функции Precision от аргумента Confidence; С – график функции Confidence от аргумента Recall; D – график функции от аргумента Recall.

parts: one part goes through a sequence of convolutions, whereas the other is sent to later stages. This alleviated the calculation burden and improve the model convergence [32].

2. Neck: this block joins the signs from various levels using the FPN (Feature Pyramid Network) and the PAN (Path Aggregation Network). FPN assists joining the signs with low and high resolution, and PAN improves transmission of information across the network, which is critical for precise segmentation.

3. Head: the output layer includes adaptive Anchor Boxes and convolution layers that predict classes of objects, their location and segmentation masks. In this modification of YOLOv8 for the purposes of medical segmentation, the block of deep convolution layer was also used to improve sensitivity to minor details of lesions [33].

To train the model, images sized 512×512 pixels were used. The training was performed using stochastic gradient descent with a momentum of 0.9 and an initial learning rate of 0.001. The dataset was divided into training and testing samples in a 90/30 ratio. Following the segmentation of demyelination foci by the radiologist, images were obtained (Fig. 1) on the basis of which ‘masks’ were formed to train the YOLOv8 algorithm.

The block diagram of the complete algorithm for creating a training sample, including all stages of primary preparation, their standardization based on the features of differences in the matrix of the image itself, is presented in Figure 2.

Localization of demyelination foci	Precision	Recall	F1-Score	Confidence
Periventricular (1)	0,82	0,76	0,59	0,85
Juxtacortical (2)	0,80	0,71	0,52	0,82
Subcortical (3)	0,78	0,70	0,79	0,80
Infratentorial (4)	0,76	0,68	0,58	0,78
All types of foci	0,79	0,73	0,61	0,81

Table 2. Metrics of the resulting model regarding the classification of individual demyelination lesions

Таблица 2. Показатели метрик полученной модели относительно классификации отдельных очагов демиелинизации

To evaluate quality of segmentation, Intersection over Union (IoU) and Dice Score metrics were used.

The model was trained using the data from 30 examinations, each having 86 scans on average (total of 2580 scans).

The resulting model is well capable of recognizing demyelination areas on MRI scans with high accuracy and confidence. However, it can be improved to minimize omission of positives. The metrics of the resulting model are shown in **Fig. 3**.

The summary of metrics characterizing the quality of the resulting model by separate types of demyelination foci is shown in **Table 2**.

One of the main indicators of quality of the model's performance is the confusion matrix shown in **Fig. 4**. The classifier works with four classes, each matching a certain type of demyelination foci and the class uniting all types of demyelination foci. The model's prediction are the rows and the truth is the columns. Using the test data, the model predicted 258 areas of which 210 were true, the remaining 48 being false-positives.

The confusion matrix helps to visualize and understand which classes the model identifies correctly, and which ones cause difficulties. This is critical for further optimization of the model and improvement of its performance.

It is safe to say, therefore, that the evaluation of 'precision', 'recall', 'F1-Score' and 'confidence' metrics allows a detailed analysis of quality of the model's performance and its capability of identifying areas of interest on medical images. Their improvement is necessary to obtain a more stable model to allow using the results of its work in clinical or research practice. These metrics provide a comprehensive evaluation of the model and help in further improvement of its parameters and algorithms, which is critical for the development of an effective clinical decision support system for the diagnosis and treatment of MS.

CONCLUSION

The implementation of the YOLOv8 deep learning algorithm for the automated segmentation of demyelination foci in patients with multiple sclerosis demonstrated high precision and efficiency, which confirms the potential of this approach for clinical practice. Despite the results achieved, the model can be improved in several areas.

Firstly, the values of segmentation completeness (Recall) are still lower than needed, which indicates the possibility of omission of individual foci of demyelination. To improve segmentation completeness, it is possible to look into the

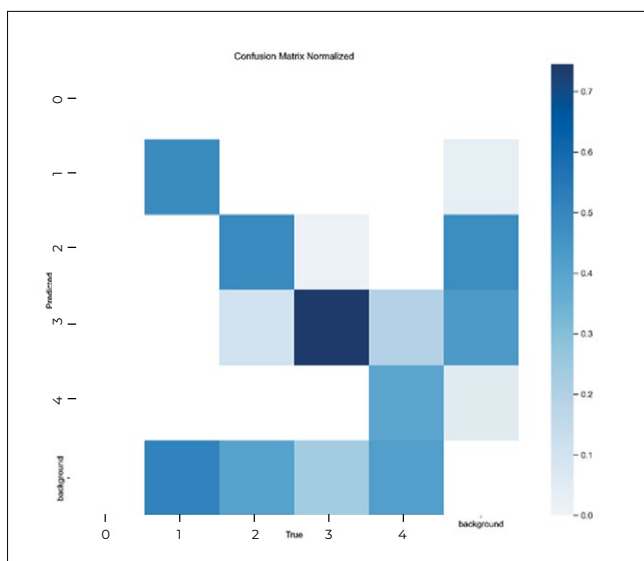


Figure 4. Confusion Matrix (0 – all types of demyelination lesions; 1 – periventricular; 2 – juxtacortical; 3 – subcortical; 4 – infratentorial).

Рисунок 4. Матрица ошибок модели (0 – все типы очагов демиелинизации; 1 – перивентрикулярные; 2 – юстакортикальные; 3 – субкортикальные; 4 – инфратенториальные).

usage of hybrid architectures that combine YOLOv8 with other models, e.g. U-Net or nnU-Net that have demonstrated their efficiency in medical segmentation. A combination of advantages of different architectures may improve the model's capability of identifying even the smallest and hard-to-discern foci. Another prospective line of work could be the implementation of model ensemble when the results provided by several algorithms are joined to improve the overall precision and completeness.

Secondly, one of the ways of further optimization could be the use of data augmentation and synthetic image generation methods. Deep learning models often depend on the volume and diversity of data, and the increase of the data set by generating new MRI scans, especially for complicated or hard-to-reach cases, could improve the precision of segmentation and lower the probability of false positive results. The use of generative adversarial networks (GANs) to create such synthetic data could become an effective approach.

The model can further benefit from using the domain adaptation methods. This approach enables the algorithms trained on one data set to perform efficiently on other sets of data different in quality or scanning methods. In real clinical practice, different MRI machines with different technical parameters are used, which can affect the scan quality. The adaptation of the model to different sets of data, possibly by means of transfer learning, could improve the model's versatility and performance reliability.

Possible directions for further application of the model include its integration into complex medical decision-making support systems. Automatic segmentation of demyelination foci can be used not only for diagnosis, but also for monitoring disease progression and assessing the effectiveness of therapy. Regular use of MRI with automatic segmentation could assist doctors in following up on the patients' condition, timely identification of new lesions and evaluation of changes in the

existing ones. This will allow for faster adjustment of therapy and prevention of complications.

Another promising direction is the use of the model for training specialists. Automated segmentation algorithms can serve as the basis for educational systems allowing young doctors and radiologists learn by using real medical data and comparing their results with those yielded by the algorithm.

This may assist improvement of professional training and lowering the human factor in diagnostics.

Thus, the implementation and further optimization of automated segmentation models, e.g. YOLOv8, may contribute significantly to the quality of multiple sclerosis diagnostics, speed up the data processing and alleviate the burden on the medical professionals. ■

ADDITIONAL INFORMATION	ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ
Compliance with ethical standards. The study was approved by the Ethics Committee of the Samara State Medical University (Protocol No. 52 dated 12.12.2023).	Соблюдение этических норм. Исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол №52 от 12.12.2023 г.).
Study funding. This research received no external funding.	Источник финансирования. Исследование проводилось без спонсорской поддержки.
Conflict of interest. The authors declare that there are no obvious or potential conflicts of interest associated with the content of this article.	Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием настоящей статьи.
Contribution of individual authors. A.V. Zakharov – formulation of the idea and aims of the study, development of methodology; conducting the experiments, research, or collecting data; editing, proofreading, and preparing the text for publication; general project management. I.V. Shirolapov – development of the methods or procedures used in the study; writing the initial text of the article; organization and coordination of the project. E.V. Khivintseva – conducting the experiments and collecting data. M.S. Sergeeva – provision of necessary resources, including materials, instruments, equipment, data, or other access. N.P. Romanchuk – data management, organization, annotation, and ensuring availability for analysis. D.A. Dedyk, D.D. Melnikova, A.M. Andreev, A.I. Mavletova, A.O. Shchepetov – programming, software creation, coding, testing, and technical support. Jude Hemanth – verification of experimental results; reproducing studies and validating data analysis; application of mathematical, statistical, or computational methods to analyze data; editing, proofreading and preparing text for publication. All authors gave their final approval of the manuscript for submission, and agreed to be accountable for all aspects of the work, implying proper study and resolution of issues related to the accuracy or integrity of any part of the work.	Участие авторов. А.В. Захаров – формулирование идеи и целей исследования, разработка методологии; проведение экспериментов, исследований или сбора данных; редактирование, корректировка и подготовка текста к публикации; общее руководство проектом. И.В. Шиrolapov – разработка методик или процедур, используемых в исследовании; написание первоначального текста статьи; организация и координация проекта. Е.В. Хивинцева – проведение экспериментов и сбора данных. М.С. Сергеева – предоставление необходимых ресурсов, включая материалы, инструменты, оборудование, данные или другой доступ. Н.П. Романчук – управление данными, их организация, аннотирование и обеспечение доступности для анализа. Д.А. Дедык, Д.Д. Мельникова, А.М. Андреев, А.И. Мавлетова, А.О. Щепетов – программирование, создание программного обеспечения, написание кода, тестирование и техническая поддержка. Jude Hemanth – проверка результатов экспериментов; воспроизведение исследований и валидация анализа данных; применение математических, статистических или вычислительных методов для анализа данных; редактирование, корректировка и подготовка текста к публикации. Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.

REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА

- Jakimovski D, Bittner S, Zivadinov R, et al. Multiple sclerosis. *The Lancet*. 2024;403(10422):183-202.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(23\)01473-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(23)01473-3)
- Kaisey M, Solomon AJ. Multiple Sclerosis Diagnostic Delay and Misdiagnosis. *Neurologic Clinics*. 2024;42(1):1-13.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ncl.2023.07.001>
- Giovannoni G, Butzkueven H, Dhib-Jalbut S, et al. Brain health: time matters in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*. 2016;9:5-48.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msard.2016.07.003>
- Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *The Lancet Neurology*. 2018;17(2):162-173.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30470-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30470-2)

- Wattjes MP, Ciccarelli O, Reich DS, et al. 2021 MAGNIMS–CMSC–NAIMS consensus recommendations on the use of MRI in patients with multiple sclerosis. *The Lancet Neurology*. 2021;20(8):653-670.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(21\)00095-8](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(21)00095-8)
- Egger C, Opfer R, Wang C, et al. MRI FLAIR lesion segmentation in multiple sclerosis: Does automated segmentation hold up with manual annotation? *NeuroImage: Clinical*. 2017;13:264-270.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2016.11.020>
- Diaz-Hurtado M, Martínez-Heras E, Solana E, et al. Recent advances in the longitudinal segmentation of multiple sclerosis lesions on magnetic resonance imaging: a review. *Neuroradiology*. 2022;64(11):2103-2117.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s00234-022-03019-3>
- Commowick O, Combès B, Cervenansky F, Dojat M. Editorial: Automatic methods for multiple sclerosis new lesions detection and segmentation. *Front Neurosci*. 2023;17:1176625.
DOI: <https://doi.org/10.3389/fnins.2023.1176625>

9. Fartaria MJ, Bonnier G, Roche A, et al. Automated detection of white matter and cortical lesions in early stages of multiple sclerosis. *Magnetic Resonance Imaging*. 2016;43(6):1445-1454.
DOI: <https://doi.org/10.1002/jmri.25095>
10. Todea AR, Melie-Garcia L, Barakovic M, et al. A Multicenter Longitudinal MRI Study Assessing LeMan-PV Software Accuracy in the Detection of White Matter Lesions in Multiple Sclerosis Patients. *Magnetic Resonance Imaging*. 2023;58(3):864-876.
DOI: <https://doi.org/10.1002/jmri.28618>
11. A. Abdullah B. Multi-Sectional Views Textural Based SVM for MS Lesion Segmentation in Multi-Channels MRIs. *TOBEJ*. 2012;6(1):56-72.
DOI: <https://doi.org/10.2174/1874230001206010056>
12. ElSebely R, Yousef AH, Salem AA, Abdullah B. Automatic Segmentation of Multiple Sclerosis Lesions in Brain MR Images Using Ensemble Machine Learning. In: *2021 International Mobile, Intelligent, and Ubiquitous Computing Conference (MIUCC)*. IEEE; 2021:28-33.
DOI: <https://doi.org/10.1109/MIUCC52538.2021.9447657>
13. HosseiniPanah S, Zamani A, Emadi F, HamtaeiPour F. Multiple Sclerosis Lesions Segmentation in Magnetic Resonance Imaging using Ensemble Support Vector Machine (ESVM). *J Biomed Phys Eng*. 2019;9(6):699-710.
DOI: <https://doi.org/10.31661/jbpe.v0i0.986>
14. Schmidt P, Gaser C, Arsic M, et al. An automated tool for detection of FLAIR-hyperintense white-matter lesions in Multiple Sclerosis. *NeuroImage*. 2012;59(4):3774-3783.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.11.032>
15. Galimzianova A, Lesjak Ž, Rubin DL, et al. Locally adaptive magnetic resonance intensity models for unsupervised segmentation of multiple sclerosis lesions. *J Med Imag*. 2017;5(1):011007.
DOI: <https://doi.org/10.1117/1.JMI.5.1.011007>
16. Geremia E, Clatz O, Menze BH, et al. Spatial decision forests for MS lesion segmentation in multi-channel magnetic resonance images. *NeuroImage*. 2011;57(2):378-390.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.03.080>
17. Dwyer MG, Bergsland N, Ramasamy DP, et al. Salient Central Lesion Volume: A Standardized Novel Fully Automated Proxy for Brain FLAIR Lesion Volume in Multiple Sclerosis. *Journal of Neuroimaging*. 2019;29(5):615-623.
DOI: <https://doi.org/10.1111/jon.12650>
18. Tran P, Thoprakarn U, Gourieux E, et al. Automatic segmentation of white matter hyperintensities: validation and comparison with state-of-the-art methods on both Multiple Sclerosis and elderly subjects. *NeuroImage: Clinical*. 2022;33:102940.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2022.102940>
19. Cavado E, Tran P, Thoprakarn U, et al. Validation of an automatic tool for the rapid measurement of brain atrophy and white matter hyperintensity: QyScore®. *Eur Radiol*. 2022;32(5):2949-2961.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s00330-021-08385-9>
20. Brune S, Høgestøl EA, Cengija V, et al. LesionQuant for Assessment of MRI in Multiple Sclerosis – A Promising Supplement to the Visual Scan Inspection. *Front Neurol*. 2020;11:546744.
DOI: <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.546744>
21. Valcarcel AM, Muschelli J, Pham DL, et al. TAPAS: A Thresholding Approach for Probability Map Automatic Segmentation in Multiple Sclerosis. *NeuroImage: Clinical*. 2020;27:102256.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2020.102256>
22. Basaran BD, Matthews PM, Bai W. New lesion segmentation for multiple sclerosis brain images with imaging and lesion-aware augmentation. *Front Neurosci*. 2022;16:1007453.
DOI: <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.1007453>
23. Isensee F, Jaeger PF, Kohl SAA, et al. nnU-Net: a self-configuring method for deep learning-based biomedical image segmentation. *Nat Methods*. 2021;18(2):203-211.
DOI: <https://doi.org/10.1038/s41592-020-01008-z>
24. Ronneberger O, Fischer P, Brox T. U-Net: Convolutional Networks for Biomedical Image Segmentation. In: *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention – MICCAI 2015*. Vol. 9351. *Lecture Notes in Computer Science*. Springer International Publishing. 2015:234-241.
DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-24574-4_28
25. Hitziger S, Ling WX, Fritz T, et al. Triplanar U-Net with lesion-wise voting for the segmentation of new lesions on longitudinal MRI studies. *Front Neurosci*. 2022;16:964250.
DOI: <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.964250>
26. Andresen J, Uzunova H, Ehrhardt J, et al. Image registration and appearance adaptation in non-correspondent image regions for new MS lesions detection. *Front Neurosci*. 2022;16:981523.
DOI: <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.981523>
27. Kamraoui RA, Mansencal B, Manjon JV, Coupé P. Longitudinal detection of new MS lesions using deep learning. *Front Neuroimaging*. 2022;1:948235.
DOI: <https://doi.org/10.3389/fnimg.2022.948235>
28. Salem M, Ryan MA, Oliver A, et al. Improving the detection of new lesions in multiple sclerosis with a cascaded 3D fully convolutional neural network approach. *Front Neurosci*. 2022;16:1007619.
DOI: <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.1007619>
29. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: An expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*. 1983;33(11):1444-1444.
DOI: <https://doi.org/10.1212/WNL.33.11.1444>
30. Kurtzke JF. Clinical definition for multiple sclerosis treatment trials. *Ann Neurol*. 1994;36(1):73-79.
DOI: <https://doi.org/10.1002/ana.410360717>
31. Kurtzke JF. On the origin of EDSS. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*. 2015;4(2):95-103.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msard.2015.02.003>
32. Wang CY, Mark Liao HY, Wu YH, et al. CSPNet: A New Backbone that can Enhance Learning Capability of CNN. In: *2020 IEEE/CVF Conference on Computer Vision and Pattern Recognition Workshops (CVPRW)*. IEEE; 2020:1571-1580.
DOI: <https://doi.org/10.1109/CVPRW50498.2020.00203>
33. Bochkovskiy A, Wang CY, Liao HY. YOLOv4: Optimal Speed and Accuracy of Object Detection. Published online 2020.
DOI: <https://doi.org/10.48550/ARXIV.2004.10934>

Роль однонуклеотидных вариантов генов фолатного цикла матери с эпилепсией в формировании врожденных пороков развития плода

А.В. Якунина¹, А.А. Усольцева², В.А. Калинин¹, И.Е. Повереннова¹, Ю.В. Мякишева¹

¹ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России
(Самара, Российская Федерация)

²ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет
имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России (Красноярск, Российская Федерация)

Аннотация

Цель – изучить частоту носительства однонуклеотидных вариантов (ОНВ) rs1801133 и rs1801131 гена *MTHFR*; rs1801394 гена *MTRR*, rs1805087 гена *MTR* и rs1051266 гена *SLC19A1* у женщин с эпилепсией и оценить их ассоциации с врожденными пороками развития (ВПР) плода.

Материал и методы. В исследование была включена 61 больная эпилепсией, имеющая в анамнезе одну и более беременность с известным исходом по наличию ВПР у ребенка. Пациентки были разделены на две группы: у 20 были зарегистрированы различные ВПР плода (основная группа), у 41 пациентки рожденные дети не имели ВПР (группа сравнения). ДНК была выделена из крови, генотипирование пяти ОНВ в четырех генах было проведено методом полимеразной цепной реакции. Были определены частоты генотипов и аллелей у матерей основной группы и группы сравнения, различия были оценены с помощью критерия хи-квадрат Пирсона (χ^2) и точного критерия Фишера.

Результаты. Статистически значимые различия отсутствовали в частотах генотипов и аллелей для всех проанализированных ОНВ между основной

группой и группой сравнения ($p > 0,05$). Не было выявлено статистически значимых различий в частотах генотипов и аллелей ОНВ исследованных генов у матерей детей с ВПР ($n = 14$) и без ВПР ($n = 22$), принимающих вальпроовую кислоту ($p > 0,05$). Выявлена статистически значимая взаимосвязь между носительством определенной гаплогруппы матери и формированием ВПР плода.

Выводы. Исследования носительства отдельных ОНВ генов фолатного цикла в настоящее время не могут быть использованы в качестве достоверного прогностического инструмента ВПР плода у женщин с эпилепсией. Возникновение ВПР у ребенка является мультифакториальным явлением, в котором генетические факторы с небольшим размером эффекта могут играть роль только в случае определенных неблагоприятных комбинаций.

Ключевые слова: гены фолатного цикла, однонуклеотидный вариант, эпилепсия, беременность, врожденный порок развития.

Конфликт интересов: не заявлен.

Для цитирования:

Якунина А.В., Усольцева А.А., Калинин В.А., Повереннова И.Е., Мякишева Ю.В. Роль однонуклеотидных вариантов генов фолатного цикла матери с эпилепсией в формировании врожденных пороков развития плода. Наука и инновации в медицине. 2024;9(4):291-296. DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM629862>

Сведения об авторах

Якунина А.В. – канд. мед. наук, доцент кафедры неврологии и нейрохирургии.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7996-5213>

E-mail: a.v.yakunina@samsmu.ru

Усольцева А.А. – ассистент кафедры медицинской генетики и нейрофизиологии ИПО.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9678-6719>

E-mail: a.usoltseva@list.ru

Калинин В.А. – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры неврологии и нейрохирургии.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3233-8324>

E-mail: v.a.kalinin@samsmu.ru

Повереннова И.Е. – д-р мед. наук, профессор, заведующая кафедрой неврологии и нейрохирургии.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2594-461X>

E-mail: i.e.poverennova@samsmu.ru

Мякишева Ю.В. – д-р мед. наук, доцент, заведующая кафедрой

общей и молекулярной биологии.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0947-5111>

E-mail: yu.v.myakisheva@samsmu.ru

Автор для переписки

Якунина Альбина Викторовна

Адрес: Самарский государственный медицинский университет,

ул. Чапаевская, 89, г. Самара, Россия, 443099.

E-mail: a.v.yakunina@samsmu.ru

Список сокращений

ВПР – врожденный порок развития;

ОНВ – однонуклеотидный вариант;

ПЭП – противосудорожный препарат.

Получено: 02.04.2024

Одобрено: 16.06.2024

Опубликовано: 06.08.2024

The role of single nucleotide variants of folate cycle genes of a mother with epilepsy in the occurrence of congenital malformations of the fetus

Albina V. Yakunina¹, Anna A. Usoltseva², Vladimir A. Kalinin¹, Irina E. Poverennova¹, Yuliya V. Myakisheva¹

¹Samara State Medical University (Samara, Russian Federation)

²Professor V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University (Krasnoyarsk, Russian Federation)

Abstract

Aim – to study the frequency of single-nucleotide variants (SNV) rs1801133 and rs1801131 of the *MTHFR* gene; rs1801394 of the *MTRR* gene, rs1805087 of the *MTR* gene and rs1051266 of the *SLC19A1* gene in women with epilepsy and to evaluate their associations with major congenital malformations (MCM) of the fetus.

Material and methods. The study included 61 women with epilepsy who have children: 20 had different fetal MCM (main group), 41 patients had children born without MCM (comparison group). DNA was extracted from blood, and the genotyping of five SNVs into four genes was analyzed by polymerase chain reaction. The frequencies of genotypes and alleles in

the mothers of the main and the comparison group were determined, the differences were assessed using Pearson's chi-squared criterion (χ^2) and Fisher's exact criterion.

Results. There were no statistically significant differences in the frequencies of genotypes and alleles for all analyzed SNVs between the main group and the comparison group. There were no statistically significant differences in the frequencies of genotypes and alleles of SNV of the studied genes of the folate cycle in mothers of children with malformations ($n = 14$) and without malformations ($n = 22$), taking valproic acid. A statistically significant

relationship was revealed between the carrier of a certain haplogroup of the mother and the formation of fetal MCM.

Conclusion. The MCM in a child is a multifactorial phenomenon in which genetic factors with a small effect size can play a significant role only in the case of certain unfavorable combinations.

Keywords: folate cycle genes, single nucleotide variant, epilepsy, pregnancy, congenital malformation.

Conflict of interest: nothing to disclose.

Citation

Yakunina AV, Usoltseva AA, Kalinin VA, Poverennova IE, Myakisheva YuV. The role of single nucleotide variants of folate cycle genes of a mother with epilepsy in the occurrence of congenital malformations of the fetus. *Science and Innovations in Medicine*. 2024;9(4):291-296. DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM629862>

Information about authors

Albina V. Yakunina – PhD, Associate professor of the Department of neurology and neurosurgery. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7996-5213> E-mail: a.v.yakunina@samsmu.ru

Anna A. Usoltseva – assistant of the Department of medical genetics and clinical neurophysiology of the Institute of Postgraduate Education. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9678-6719> E-mail: a.usoltseva@list.ru

Vladimir A. Kalinin – PhD, MD, Professor of the Department of neurology and neurosurgery. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3233-8324> E-mail: v.a.kalinin@samsmu.ru

Irina E. Poverennova – PhD, MD, Professor, Head of the Department of neurology and neurosurgery.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2594-461X>

E-mail: i.e.poverennova@samsmu.ru

Yuliya V. Myakisheva – PhD, MD, Head of the Department of general and molecular biology.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0947-511X>

E-mail: yu.v.myakisheva@samsmu.ru

Corresponding Author

Albina V. Yakunina

Address: Samara State Medical University, 89 Chapaevskaya st., Samara, Russia, 443099.

E-mail: a.v.yakunina@samsmu.ru

Received: 02.04.2024

Accepted: 16.06.2024

Published: 06.08.2024

ВВЕДЕНИЕ

Проблема возникновения врожденных пороков развития (ВПР) у детей женщин с эпилепсией изучается с начала 60-х годов XX века [1, 2]. Установлено, что уровень тератогенеза у женщин с эпилепсией, не получающих лечение противосудорожными препаратами (ПЭП), не превышает общепопуляционных значений в 3,5–5,0% [3], в то же время терапия ПЭП повышает риск пороков развития у плода в 2–3 раза [3, 4]. Факторами риска возникновения ВПР считается политерапия, прием определенных ПЭП, в первую очередь вальпроевой кислоты и топирамата, высокая суточная доза ПЭП [5–7].

Механизмы тератогенного влияния ПЭП до сих пор не известны. Предполагается эмбриотоксическое действие эпоксид-метаболитов ПЭП, которые опосредованно могут негативно влиять на синтез РНК и ДНК. В качестве тератогенного механизма рассматривается также фетальный оксидативный стресс [8]. Одним из наиболее важных факторов формирования ВПР в настоящее время принято считать нарушение фолатного цикла с дефицитом фолатов и гипергомоцистеинемией [5, 9, 10]. Фолатный цикл – это цепь ферментативных взаимопревращений производных фолиевой кислоты (витамин B_9), который затрагивает базовые пути метаболизма клетки. Продукты фолатного цикла используются для таких клеточных процессов, как восстановление метионина, синтез пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, метилирование ДНК [9].

В фолатном цикле участвует более десятка ферментов, основные из которых – *MTHFR* (метилентетрагидрофолатредуктаза), *MTR* (метионин-синтаза), *MTRR* (метионин-синтаза-редуктаза, а также белок – переносчик фолатов в клетку *SLC19A1*. Для генов, кодирующих данные белки, описаны значимые однонуклеотидные варианты (ОНВ), которые приводят к изменению их активности [11]. Дефицит *MTHFR* приводит к снижению метилирования ДНК, что вызывает активацию генов, участвующих в росте и дифференцировке клеток. В случае снижения активности этого фермента у женщин фертильного возраста

усиливается влияние тератогенных и мутагенных факторов внешней среды на плод, включая ксенобиотики, к которым относятся ПЭП [12]. Описаны ОНВ гена *MTHFR* с.677 C>T (rs1801133) и с.1298 A>C (rs1801133), связанные с ферментативным дефицитом и развитием гипергомоцистеинемии [13]. Процесс реметилирования гомоцистеина в метионин осуществляется ферментом *MTR*, восстановление которого из неактивного состояния происходит под действием *MTRR*. Полиморфные варианты с.2756 (rs1805087) *MTR* и с.66 (rs1801394) *MTRR* приводят к снижению активности восстановления метионина из гомоцистеина, что усиливается при дефиците витамина B_{12} [14]. На внутриклеточную концентрацию фолиевой кислоты влияет ОНВ с.80 (rs 1051266) *SLC19A1*, гомозиготный генотип GG которого является фактором риска пороков нервной трубки [15].

Из-за решающей роли в пути метаболизма фолатов однонуклеотидным вариантам С677Т и А1298С в *MTHFR*, А2756G в *MTR*, А66G в *MTRR* и А80G в *SLC19A1* уделяется наибольшее внимание в плане изучения риска развития пороков нервной трубки [11]. Между тем исследования ОНВ генов фолатного цикла в популяции женщин с эпилепсией, в том числе на фоне приема ПЭП, немногочисленны, а результаты неоднозначны. В связи с этим определение геномной архитектуры ВПР плода у женщин с эпилепсией является актуальной задачей.

ЦЕЛЬ

Изучить частоту носительства ОНВ rs1801133 и rs1801131 гена *MTHFR*; rs1801394 гена *MTRR*, rs1805087 гена *MTR* и rs1051266 гена *SLC19A1* у женщин с эпилепсией и оценить их ассоциации с ВПР плода.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование была включена 61 пациентка с эпилепсией, имеющая в анамнезе одну и более беременность, не прервавшуюся в первом триместре, с известным исходом по наличию ВПР у ребенка. Пациентки были разделены

Генотип/ Аллели	ВПР есть (основная группа)		ВПР нет (группа сравнения)		P	ОШ	
	N	%	N	%		Абс.	95% ДИ
rs 1801133 гена MTHFR							
Генотип							
CC	12	60	24	59	0,89	1,1	0,32–3,7
CT	8	40	17	42			
TT	0	0	0	0			
Всего	20	100	41	100			
PXB, p		0,34		0,11			
Аллель							
C	32	80	65	79	0,91	1,0	0,38–3,1
T	8	20	17	21			
Всего	40		82	100			
rs 1801131 гена MTHFR							
Генотип							
AA	6	30	20	49	0,35	-	-
AC	11	55	16	39			
CC	3	15	5	12			
Всего	20	100	41	100			
PXB, p		0,84		0,34			
Аллель							
C	23	57	56	68	0,71	1,6	0,7–3,7
A	17	43	26	32			
Всего	40		82				
rs1801394 гена MTRR							
Генотип							
AA	3	15	6	15	0,44	-	-
AG	12	60	18	44			
GG	5	25	17	41			
Всего	20	100	41	100			
PXB, p		0,52		0,21			
Аллель							
A	18	57	30	68	0,93	1,4	0,6–3,3
G	22	43	52	32			
Всего	40	100	82	100			
rs1805087 гена MTR							
Генотип							
AA	12	60	27	66	0,66	-	-
AG	7	35	10	24			
GG	1	5	4	10			
Всего	20	100	41	100			
PXB, p		0,76		0,78			
Аллель							
A	31	77	64	78	0,91	1,0	0,6–2,8
G	9	23	18	22			
Всего	40	100	82	100			
rs1051266 гена SLC19A1							
Генотип							
AA	5	60	17	66	0,66	-	-
AG	9	35	11	24			
GG	6	5	13	10			
Всего	20	100	41	100			
PXB, p		0,52		0,002			
Аллель							
A	19	48	45	55	0,51	1,3	0,6–3,1
G	21	52	37	45			
Всего	40	100	82	100			

Таблица 1. Частота носительства аллелей и генотипов ОНВ rs1801133 и rs1801131 гена MTHFR; rs1805087 гена MTR; rs1801394 гена MTRR и rs1051266 гена SLC19A1

Table 1. The frequency of carriage of alleles and genotypes of the SNV rs1801133 and rs1801131 of the MTHFR gene; rs1805087 of the MTR gene; rs1801394 of the MTRR gene and rs1051266 of the SLC19A1 gene

на две группы: у 20 пациенток были зарегистрированы различные ВПР плода (основная группа), у 41 пациентки рожденные дети не имели ВПР (группа сравнения). Группы были сопоставимы по возрасту пациенток и формам эпилепсии. В период беременности не получали ПЭП 8/61 (13,1%) женщин, 37/61 (60,7%) женщин принимали один ПЭП, 16/61 (26,2%) получали политерапию. Лечение вальпроевой кислотой в монотерапии получали 23/37 (62,2%) пациентки, в политерапию вальпроевая кислота была включена у 13/16 (81,3%) пациенток. Таким образом, 36/61 (59,0%) пациенток получали вальпроевую кислоту в период беременности, 25/61 (41,0%) пациенток получали либо иные ПЭП, либо не принимали ПЭП в период беременности. ВПР плода были зарегистрированы у 14/36 (38,9%) пациенток, получавших лечение вальпроевой кислотой в период беременности, и у 6/26 (24,0%) женщин, не получавших вальпроевой кислоты.

Забор крови в объеме 10 мл из локтевой вены пациента производили в асептических условиях в вакуумные пробирки. Собранная кровь наносилась на бланки из фильтровального ватмана производства фирмы «Грин-вен» (Россия). Выделение геномной ДНК осуществляли с использованием коммерческого набора «ДНК – экспресс кровь» производства НПФ «ЛИТЕХ». После проведения термического лизиса в твердотельном термостате «Термит» образец центрифугировался на ультраскоростной центрифуге Minispin (Эппендорф), и супернатант брался в работу. Путем проведения аллель-специфичной амплификации в амплификаторах «Терцик» (ДНК-технология) с последующим электрофорезом с бромистым этидием в 3% агарозном геле определялось носительство ОНВ rs1801133 и rs1801131 гена MTHFR; rs1805087 гена MTR; rs1801394 гена MTRR и rs1051266 гена SLC19A1.

Для обозначения вариантов генотипа ОНВ rs1801133 (с.677 C>T) гена MTHFR были приняты следующие обозначения: гомозиготный высокопродуктирующий – генотип CC (цитозин/цитозин), гетерозиготный генотип – CT (цитозин/тимин), гомозиготный генотип по низкопродуктирующему аллелю – TT (тимин/тимин). Для обозначения вариантов генотипа ОНВ rs1801131 (с.1298 A>C) гена MTHFR были приняты следующие обозначения: гомозиготный высокопродуктирующий – генотип AA (аденин/аденин), гетерозиготный генотип – AC (аденин/цитозин), гомозиготный генотип по низкопродуктирующему аллелю – CC (цитозин/цитозин). Для обозначения вариантов генотипа ОНВ rs1805087 (с.2756 A>G) гена MTR были приняты следующие обозначения: гомозиготный высокопродуктирующий – генотип AA (аденин/аденин), гетерозиготный генотип – AG (аденин/гуанин), гомозиготный генотип по низкопродуктирующему аллелю – GG (гуанин/гуанин). Для обозначения вариантов генотипа ОНВ rs1801394 (с.66 A>G) гена MTRR были приняты следующие обозначения: гомозиготный высокопродуктирующий – генотип AA (аденин/аденин), гетерозиготный генотип – AG (аденин/гуанин), гомозиготный генотип по низкопродуктирующему аллелю – GG (гуанин/гуанин). Для обозначения вариантов генотипа ОНВ rs1051266 (с.80 A>G) гена SLC19A1 были приняты следующие обозначения: гомозиготный высокопродуктирующий – генотип GG (гуанин/гуанин), гетерозиготный генотип – GA (гуанин/аденин), гомозиготный

Локус	ВПР есть n ₁ = 14	ВПР нет n ₂ = 22	χ ²	Р	ОШ	
					Абс.	ДИ
rs 1801133 гена MTHFR						
Генотип						
CC	8	11	-	-	1,2	0,5–2,7
CT	6	11			0,8	0,4–1,9
TT	0	0			-	-
Аллели						
C	22	33	0,06	0,81	1,2	0,3–6,1
T	6	11			0,8	0,2–4,1
rs 1801131 гена MTHFR						
Генотип						
AA	5	11	0,76	0,68	0,7	0,3–1,7
AC	7	9			1,3	0,6–2,8
CC	2	2			1,3	0,5–3,9
Аллели						
A	17	31	0,37	0,55	0,6	0,2–2,7
C	11	13			1,5	0,4–6,3
rs1801394 гена MTRR						
Генотип						
GG	3	8	1,64	0,44	0,6	0,2–1,8
AG	9	12			1,3	0,5–3,0
AA	2	2			1,3	0,5–3,9
Аллели						
G	15	28	0,36	0,55	0,7	0,2–2,6
A	13	16			1,5	0,4–6,0
rs1805087 гена MTR						
Генотип						
AA	7	13	1,15	0,56	0,8	0,4–1,8
AG	7	8			1,4	0,6–3,2
GG	0	1			-	-
Аллели						
A	21	34	0,03	0,88	0,9	0,2–4,2
G	7	10			1,1	0,2–5,4
rs1051266 гена SLC19A1						
Генотип						
AA	2	10	5,33	0,07	0,3	0,1–1,26
AG	7	4			2,3	1,1–4,9
GG	5	8			0,9	0,4–2,3
Аллели						
A	11	24	0,79	0,37	0,5	0,1–2,1
G	17	20			1,9	0,5–7,2

Таблица 2. Частота носительства аллелей и генотипов ОНВ генов MTHFR, MTR; MTRR; SLC19A1 у пациенток, получавших вальпроовую кислоту в период беременности

Table 2. The frequency of carriage of alleles and genotypes of the SNV genes MTHFR, MTR; MTRR; SLC19A1 in patients treated with valproic acid during pregnancy

генотип по низкопродуцирующему аллелю – AA (аденин/аденин).

По результатам исследования в программе MS Excel 2013 была сформирована база данных, на основе которой с помощью пакетов прикладных программ SPSS Statistics (версия 19.0) и онлайн-калькулятора для расчета равновесия Харди – Вайнберга (PXB), доступного по электронному адресу <https://wpcalc.com/en/equilibrium-hardy-weinberg/>, осуществлялся статистический анализ. Для описания качественных данных использовали процент и 95% доверительный интервал (95% ДИ). Для определения статистической значимости отличий между качественными признаками применяли критерий хи-квадрат Пирсона (χ^2) при значениях ожидаемых частот больше 5. Если более 20% ожидаемых частот были меньше 5, то использовался точный критерий Фишера. Для оценки факторов риска, ассоциирующихся с

Гаплогруппы	ВПР плода		p
	Есть (n = 40)	Нет (n = 82)	
Блок 1			
TAAAA	3	7	0,24
TAAAG	4	3	
TAGAG	1	2	
CAAAAG	5	4	
CAAGG	1	0	
CAGAA	0	14	
CAGGA	2	5	
CAGAG	3	7	
CAGGG	3	5	
CCAAG	2	10	
CCAGA	3	1	
CCGAA	8	5	
CCGAG	4	5	
Блок 2			
CCGGA	0	2	1,00
CCGGG	0	3	
TAAGA	0	1	
TAGAA	0	4	
CAAAA	0	3	
CAAGA	0	1	
CAGAA	1	0	
Всего	40	82	
P	0,01		

Таблица 3. Блоки гаплогрупп ОНВ rs1801133 и rs1801131 гена MTHFR; rs1801394 гена MTRR, rs1805087 гена MTR и rs1051266 гена SLC19A1, объединенные программой SANCT

Table 3. The blocks of the SNV haplogroups rs1801133 and rs1801131 of the MTHFR gene; rs1801394 of the MTRR gene, rs1805087 of the MTR gene and rs1051266 of the SLC19A1 gene combined by the SANCT program

развитием ВПР, оценивали показатели отношения шансов (ОШ, 95% ДИ). Межгрупповые различия признавались как статистически значимые при значении $p < 0,05$. Для выявления паттерна сходства и формирования внутренне гомогенных блоков использована оригинальная авторская программа SANCT – structural analysis of contingency tables (N.N. Khromov-Borisov, T.B.L. Kist, G.B. Lazzarotto).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Распределение генотипов в основной группе и группе сравнения соответствовало закону Харди – Вайнберга, что свидетельствует о репрезентативности выборки и возможности экстраполировать результаты исследования на всю популяцию. Результаты частоты носительства аллелей и генотипов исследуемых ОНВ представлены в **таблице 1**. Частота носительства аллелей, а также гомозиготных генотипов по низкопродуцирующим, высокопродуцирующим и гетерозиготным генотипам ОНВ rs1801133 и rs1801131 гена MTHFR; rs1805087 гена MTR; rs1801394 гена MTRR и rs1051266 гена SLC19A1 не отличалась у женщин, имеющих детей с ВПР, и женщин без ВПР у потомства.

Принимая во внимание доказанную тератогенность вальпроовой кислоты, нами была предпринята попытка исследования ассоциаций ОНВ генов фолатного цикла у женщин, принимавших и не принимавших вальпроовую кислоту, с возникновением ВПР плода. Была оценена частота носительства ОНВ rs1801133 и rs1801131

Гаплогруппы	ВПР плода		Всего
	Есть (n = 40)	Нет (n = 82)	
Блок 1 TAAAA, CAGAG, CAGGA, TAGAG, CAGGG, CCGAG, TAAAG, CAAAG, CCGAA, CCAAG, CCAGA, CAAGG, CAGAA	39 97,5%	68 82,9%	107 87,7%
Блок 2 TAAGA, TAGAA, CAAAA, CAAGA, CAGAA, CCGGA, CCGGG	1 2,5%	14 17,1%	15 12,3%
Всего	40 (100,0%)	82 (100,0%)	122 (100,0%)
P	0,022		

Таблица 4. Частота встречаемости гаплогрупп ОНВ rs1801133 и rs1801131 гена *MTHFR*; rs1801394 гена *MTRR*, rs1805087 гена *MTR* и rs1051266 гена *SLC19A1* у матерей детей с ВПР и без ВПР

Table 4. The frequency of occurrence of SNV haplogroups rs1801133 and rs1801131 of the *MTHFR* gene; rs1801394 of the *MTRR* gene, rs1805087 of the *MTR* gene and rs1051266 of the *SLC19A1* gene in mothers of children with and without congenital malformation

гена *MTHFR*; rs1801394 гена *MTRR*, rs1805087 гена *MTR* и rs1051266 гена *SLC19A1* у женщин, получавших вальпроовую кислоту в период беременности, по группам «ВПР плода есть» ($n_1 = 14$) и «ВПР плода нет» ($n_2 = 22$). Статистически значимых различий частоты носительства аллелей высокопродуцирующих, низкопродуцирующих гомозиготных и гетерозиготных генотипов исследованных ОНВ генов фолатного цикла у женщин, имеющих детей с ВПР и без ВПР, выявлено не было (таблица 2).

В результате обработки было выделено два внутренние гомогенных блока гаплогрупп ОНВ rs1801133 и rs1801131 гена *MTHFR*; rs1801394 гена *MTRR*, rs1805087 гена *MTR* и rs1051266 гена *SLC19A1*, имеющих статистические значимые различия (таблица 3).

Выявлена статистически значимая взаимосвязь между носительством определенной гаплогруппы матери и формированием врожденных пороков развития плода (таблица 4). Показано, что женщины, имеющие детей с ВПР, статистически значимо чаще являлись носителями гаплогрупп из блока 1 (TAAAA, CAGAG, CAGGA, TAGAG, CAGGG, CCGAG, TAAAG, CAAAG, CCGAA, CCAGA, CAAGG, CAGAA, CCAAG) – в 39/40 (97,5%) случаях против 68/82 (82,9%) у обследованных без ВПР (ОШ 8,029 [95% ДИ 1,017–63,418], $p = 0,022$). Носительство гаплогрупп, объединенных во второй блок (TAAGA, TAGAA, CAAAA, CAAGA, CAGAA, CCGGA, CCGGG), встречалось у матерей детей с ВПР только в 1/40 (2,5%) случае, тогда как у матерей детей без ВПР – в 14/82 (17,1%), что может быть расценено как статистически значимый протективный фактор (ОШ 0,026 [95% ДИ 0,016–0,984] $p = 0,022$).

■ ОБСУЖДЕНИЕ

Хорошо известно, что ВПР являются следствием возникновения комбинаций определенных вариантов генов и их взаимодействия с факторами окружающей среды [16]. Проведенное исследование не показало статистически значимой разницы в частоте носительства ОНВ rs1801133 и

rs1801131 гена *MTHFR*; rs1801394 гена *MTRR*, rs1805087 гена *MTR* и rs1051266 гена *SLC19A1* между матерями детей с ВПР и без ВПР, что не позволяет использовать результаты генотипирования ОНВ отдельных генов фолатного цикла для прогнозирования развития ВПР плода. Идентичные данные были получены в исследовании W.K. Dewelle и соавт. (2023), которые оценивали такой же комплекс ОНВ генов фолатного цикла у более обширной выборки [17]. Значимых ассоциаций с различными ВПР плода также не было выявлено и в других исследованиях [18, 19].

Имеются данные о сочетанном влиянии носительства матерью ОНВ генов фолатного цикла и приема ПЭП в период беременности на возникновение ВПР плода [8]. Учитывая, что высокий тератогенный потенциал описан у вальпроовой кислоты, матери, получающие этот ПЭП в период беременности, были выделены в отдельную группу. Не было выявлено статистически значимых отличий в частоте носительства аллелей, гомозиготных генотипов по высокопродуцирующим аллелям, низкопродуцирующим аллелям, а также гетерозиготным носителям ОНВ rs1801133 и rs1801131 гена *MTHFR*; rs1801394 гена *MTRR*, rs1805087 гена *MTR*, rs1051266 гена *SLC19A1* между матерями детей с ВПР и без ВПР как среди получавших вальпроовую кислоту в период беременности, так и среди не леченных этим ПЭП. Таким образом, не было выявлено ассоциаций между исследованными ОНВ генов фолатного цикла матери и возникновением ВПР плода, в том числе на фоне приема ПЭП.

В настоящий момент большинство авторов признает, что нет единственных генов-кандидатов для прогноза ВПР плода и ведения беременности высокого риска и необходима оценка полигенного риска, когда суммируется генетический риск нескольких ОНВ, связанных с определенным фенотипом [20–22]. Использование оригинальной программы SANCT позволило выделить два блока однородных гаплогрупп, имеющих статистически значимые различия между собой. Далее было показано, что сочетанное носительство определенных вариантов аллелей по всем исследованным генам фолатного цикла матерью может расцениваться как фактор риска ВПР плода (ОШ 8,029 [95% ДИ 1,017–63,418], $p = 0,022$) или протективный фактор (ОШ 0,026 [95% ДИ 0,016–0,984] $p = 0,022$). Следует признать, что настоящее исследование включает небольшое количество женщин с эпилепсией, поэтому полученные результаты необходимо трактовать с осторожностью, особенно при использовании в клинической практике.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты исследования носительства отдельных ОНВ rs1801133 и rs1801131 гена *MTHFR*; rs1801394 гена *MTRR*, rs1805087 гена *MTR* и rs1051266 гена *SLC19A1* в настоящее время не могут быть использованы в качестве достоверного прогностического инструмента ВПР плода у женщин с эпилепсией. Возникновение ВПР у ребенка является мультифакториальным явлением, в котором генетические факторы с небольшим размером эффекта могут играть значимую роль только в случае определенных неблагоприятных комбинаций. ■

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ	ADDITIONAL INFORMATION
Источник финансирования. Работа выполнена по инициативе авторов без привлечения финансирования.	Study funding. The study was the authors' initiative without external funding.
Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием настоящей статьи.	Conflict of Interest. The authors declare that there are no obvious or potential conflicts of interest associated with the content of this article.
Участие авторов. А.В. Якунина, В.А. Калинин – сбор и обработка материала, написание текста, составление списка литературы. Ю.В. Мякишева – концепция и дизайн исследования, редактирование текста. А.А. Усольцева – статистическая обработка данных. И.Е. Повереннова – редактирование текста. Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.	Contribution of individual authors. A.V. Yakunina, V.A. Kalinin – scientific data collection, systematization and analysis, writing of the first draft of the manuscript. Yu.V. Myakisheva – development of the study concept, detailed manuscript editing and revision. A.A. Usoltseva – statistical data processing. I.E. Poverennova – detailed manuscript editing and revision. All authors gave their final approval of the manuscript for submission, and agreed to be accountable for all aspects of the work, implying proper study and resolution of issues related to the accuracy or integrity of any part of the work.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Karlov VA, Vlasov PN, Petrukhin VA, et al. Chapter 32. Female epilepsy. In: *Epilepsy in children and adults females and males. Physicians' manual*. M., 2019:672-691. (In Russ.). [Карлов В.А., Власов П.Н., Петрухин В.А., Жидкова И.А., Адамян Л.В. Глава 32. Эпилепсия у женщин. В кн.: *Эпилепсия у детей и взрослых женщин и мужчин. Руководство для врачей*. М., 2019:672-691]. ISBN 978-5-6042641-0-2
- Meador KJ. Effects of Maternal Use of Antiseizure Medications on Child Development. *Neurol Clin*. 2022;40(4):755-768. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ncl.2022.03.006>
- Holmes LB, Quinn M, Conant S, et al. Ascertainment of malformations in pregnancy registries: Lessons learned in the North American AED Pregnancy Registry. *Birth Defects Res*. 2023;115(14):1274-1283. DOI: <https://doi.org/10.1002/bdr2.2188>
- Lagana AS, Triolo O, D'Amico V, et al. Management of women with epilepsy: from preconception to post-partum. *Arch Gynecol Obstet*. 2016;293(3):493-503. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00404-015-3968-7>
- Dmitrenko DV, Shnayder NA, Egorova AT. *Epilepsy and pregnancy*. M., 2014. (In Russ.). [Дмитренко Д.В., Шнайдер Н.А., Егорова А.Т. *Эпилепсия и беременность*. М., 2014]. ISBN 978-5-98495-025-1
- Keni RR, Jose M, Sarma PS, Thomas SV. Kerala Registry of Epilepsy and Pregnancy Study Group. Teratogenicity of antiepileptic dual therapy: Dose-dependent, drug-specific, or both? *Neurology*. 2018;90(9):e790-e796. DOI: <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000005031>
- Cohen JM, Alvestad S, Cesta CE, et al. Comparative Safety of Antiseizure Medication Monotherapy for Major Malformations. *Ann Neurol*. 2023;93(3):551-562. DOI: <https://doi.org/10.1002/ana.26561>
- Dmitrenko DV, Shnayder NA, Strotskaya IG, et al. Mechanisms of valproate-induced teratogenesis. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2017;1S:89-96. (In Russ.). [Дмитренко Д.В., Шнайдер Н.А., Строчкая И.Г., и др. Механизмы вальпроат-индуцированного тератогенеза. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2017;специальный выпуск 1:89-96]. DOI: <https://doi.org/10.14412/2074-2711-2017-1S-89-96>
- Shengelia MO, Bepalova ON, Shengelia ND, et al. Folate-dependent congenital malformations of the fetus. *Womens health and reproduction*. 2022;1(52):49-57. (In Russ.). [Шенгелия М.О., Беспалова О.Н., Шенгелия Н.Д., Балдин А.В. Фолатзависимые врожденные пороки развития плода. *Женское здоровье и репродукция*. 2022;1(52):49-57]. URL: <https://whfordoctors.ru/statyi/folat-zavisimye-vrozhdjonnnye-poroki-razvitiya-ploda/>
- Sijlmasi O, Del Río Sevilla A, Maldonado Bautista E, Barrio Asensio MDC. Gestational folic acid deficiency alters embryonic eye development: Possible role of basement membrane proteins in eye malformations. *Nutrition*. 2021;90:111250. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nut.2021.111250>

- Almekkawi AK, Al Jardali MW, Daadaa HM, et al. Folate Pathway Gene Single Nucleotide Polymorphisms and Neural Tube Defects: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Pers Med*. 2022;12(10):1609. DOI: <https://doi.org/10.3390/jpm12101609>
- Liew SC, Gupta ED. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism: epidemiology, metabolism and the associated diseases. *European journal of medical genetics*. 2015;58(1):1-10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2014.10.004>
- Levin BL, Varga E. MTHFR: Addressing Genetic Counseling Dilemmas Using Evidence-Based Literature. *J Genet Couns*. 2016;25(5):901-11. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10897-016-9956-7>
- Kokh NV, Slepukhina AA, Lifshits GI. Folate cycle: review and practical recommendations for the interpretation of the genetic tests. *Medical genetics*. 2015;11:3-8. (In Russ.). [Кох Н.В., Слепухина А.А., Лившиц Г.И. Фолатный цикл: обзор и практические рекомендации по интерпретации генетических тестов. *Медицинская генетика*. 2015;11:3-8]. DOI: <https://doi.org/10.1234/XXXX-XXXX-2015-11-3-8>
- Findley TO, Tenpenny JC, O'Byrne MR, et al. Mutations in folate transporter genes and risk for human myelomeningocele. *Am J Med Genet A*. 2017;173(11):2973-2984. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.38472>
- Taiwo ET, Cao X, Cabrera RM, et al. Approaches to studying the genomic architecture of complex birth defects. *Prenat Diagn*. 2020;40(9):1047-1055. DOI: <https://doi.org/10.1002/pd.5760>
- Dewelle WK, Melka DS, Aklilu AT, et al. Polymorphisms in Maternal Selected Folate Metabolism-Related Genes in Neural Tube Defect-Affected Pregnancy. *Adv Biomed Res*. 2023;12:160. DOI: https://doi.org/10.4103/abr.abr_103_22
- Godbole K, Gayathri P, Ghule S, et al. Maternal one-carbon metabolism, MTHFR and TCN2 genotypes and neural tube defects in India. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2011;91:848-56. DOI: <https://doi.org/10.1002/bdra.20841>
- Ouyang S, Li Y, Liu Z, Chang H, Wu J. Association between MTR A2756G and MTRR A66G polymorphisms and maternal risk for neural tube defects: A meta-analysis. *Gene*. 2013;515:308-12. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2012.11.070>
- Boyle EA, Li YI, Pritchard JK. An expanded view of complex traits: from polygenic to omnigenic. *Cell*. 2017;169(7):1177-1186. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.05.038>
- Finnell RH, Caiaffa CD, Kim SE, et al. Gene environment interactions in the etiology of neural tube defects. *Front Genet*. 2021;10:12:659612. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.659612>
- Choi SW, Mak TS, O'Reilly P.F. Tutorial: a guide to performing polygenic risk score analyses. *Nat Protoc*. 2020;15(9):2759-2772. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41596-020-0353-1>

Хирургическое лечение забрюшинной липосаркомы с использованием технологии эндопротезирования брюшного отдела аорты и левой общей подвздошной артерии

И.С. Стилиди, М.Г. Абгарян, А.Е. Калинин, Л.Р. Шулумба, О.А. Егенов
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии
имени Н.Н. Блохина» Минздрава России
(Москва, Российская Федерация)

Аннотация

Саркомы мягких тканей – редкие злокачественные опухоли, составляющие примерно 1% всех злокачественных новообразований у взрослых, при этом примерно 15–20% всех сарком мягких тканей возникают в забрюшинном пространстве. Руководства по хирургическому лечению забрюшинных сарком до сих пор отсутствуют. Критерии нерезектабельности остаются неопределенными, а показания и соответствие требованиям к оперативному лечению разнятся.

Сосудистым резекциям при забрюшинных саркомах уделяется особое внимание. Хирургическое вмешательство с резекцией магистральных сосудов в случае их вовлечения позволяет выполнить радикальную операцию и естественно улучшает отдаленные результаты. Однако в литературе описаны лишь единичные случаи хирургических вмешательств с резекцией магистральных сосудов по поводу забрюшинных сарком. В статье описывается уникальный клинический случай двухэтапного успешного хирургического лечения пациента с забрюшинной липосаркомой и инвазией в аорту и левую общую подвздошную артерию. На первом этапе выполнена установка внутрисосудистого графт-стента. Вторым этапом – en bloc удаление опухоли, нефрэктомия и гемиколэкто-

мия слева, резекция инфраренального сегмента брюшной аорты и левой общей подвздошной артерии.

В обсуждении приводится анализ публикаций, посвященных роли сосудистых резекций при забрюшинных саркомах.

Примененная в нашей работе методика двухэтапного хирургического лечения с использованием эндопротезирования магистрального сосуда на первом этапе по сравнению с одномоментной резекцией и протезированием обладает рядом преимуществ: не требуется выполнения интраоперационного протезирования сосуда; отсутствие пережатия брюшной аорты и подвздошных артерий для формирования анастомозов; минимальный объем кровопотери и сокращение времени операции; снижение риска тромбоза и эмболии.

Учитывая вышеперечисленные преимущества, данная методика может быть рекомендована при забрюшинных саркомах с инвазией в магистральные сосуды.

Ключевые слова: забрюшинная липосаркома, резекция брюшной аорты, резекция подвздошных сосудов, сосудистая реконструкция.

Конфликт интересов: не заявлен.

Для цитирования:

Стилиди И.С., Абгарян М.Г., Калинин А.Е., Шулумба Л.Р., Егенов О.А. Хирургическое лечение забрюшинной липосаркомы с использованием технологии эндопротезирования брюшного отдела аорты и левой общей подвздошной артерии. Наука и инновации в медицине. 2024;9(4):297–302.
DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM642123>

Сведения об авторах

Стилиди И.С. – академик РАН, профессор, д-р мед. наук, директор.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0493-1166>
E-mail: biochimia@yandex.ru

Абгарян М.Г. – канд. мед. наук, старший научный сотрудник, врач-онколог отделения абдоминальной онкологии №1.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8893-1894>
E-mail: abgaryan.mikael@gmail.com

Калинин А.Е. – канд. мед. наук, старший научный сотрудник, врач-онколог отделения абдоминальной онкологии №1.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7457-3889>
E-mail: main2001@inbox.ru

Шулумба Л.Р. – ординатор хирургического отделения №1.
ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-6360-8932>
E-mail: lolashulu@yandex.ru

Егенов О.А. – канд. мед. наук, врач-онколог отделения абдоминальной онкологии №1.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8681-7905>
E-mail: egenov.omar@mail.ru

Список сокращений

СМТ – саркома мягких тканей; ОБ – общая выживаемость;
ЗС – забрюшинная саркома.

Автор для переписки

Егенов Омар Алиевич
Адрес: Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина, Каширское шоссе, 23, г. Москва, Россия, 115478.
E-mail: egenov.omar@mail.ru

Получено: 01.11.2024

Одобрено: 27.11.2024

Опубликовано: 02.12.2024

Surgical treatment of retroperitoneal liposarcoma using the technology of endoprosthetic replacement of the abdominal aorta and left common iliac artery with an endoprosthesis

Ivan S. Stilidi, Mikael G. Abgaryan, Aleksei E. Kalinin, Lola R. Shulumba, Omar A. Egenov

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology
(Moscow, Russian Federation)

Abstract

Soft tissue sarcomas are rare malignancies, accounting for approximately 1% of all malignancies in adults, with approximately 15–20% of all soft tissue sarcomas arising in the retroperitoneal space. Guidelines for the surgical treatment of retroperitoneal sarcomas are still lacking. Criteria for unresectability remain unclear, and indications and compliance with surgical treatment vary.

A special focus is made on vascular resections in retroperitoneal sarcomas. Surgical intervention with resection of the main vessels in case of their involvement allows for a radical operation and naturally improves long-term results. However, only isolated cases of surgical interventions with resection of the main vessels for retroperitoneal sarcomas are described in the literature. The article describes a unique clinical case of a two-stage successful surgical treatment of a patient with retroperitoneal liposarcoma and invasion of the aorta and left common iliac artery. At the first stage, an intravascular graft stent was installed. The second stage was en bloc tumor removal, nephrectomy

and left hemicolectomy, resection of the infrarenal segment of the abdominal aorta and left common iliac artery.

The discussion provides an analysis of publications on the role of vascular resections in retroperitoneal sarcomas.

The technique of two-stage surgical treatment using endoprosthetics of the main vessel at the first stage, compared to one-stage resection and prosthetics, used in our work has a number of advantages: no need for intraoperative prosthetics of the vessel; no clamping of the abdominal aorta and iliac arteries to form anastomoses; minimal blood loss and reduced surgery time; reduced risk of thrombosis and embolism.

Taking into account the above advantages, this technique can be recommended for retroperitoneal sarcomas with invasion of the main vessels.

Keywords: retroperitoneal liposarcoma, abdominal aortic resection, iliac vessel resection, vascular reconstruction.

Conflict of Interest: nothing to disclose.

Citation

Stilidi IS, Abgaryan MG, Kalinin AE, Shulumba LR, Egenov OA. **Surgical treatment of retroperitoneal liposarcoma using the technology of endoprosthetic replacement of the abdominal aorta and left common iliac artery with an endoprosthesis.** *Science and Innovations in Medicine*. 2024;9(4):297–302.
DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM642123>

Information about authors

Ivan S. Stilidi – Academician of the Russian Academy of Sciences, Professor, Doctor of Medical Sciences, Director.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0493-1166>
E-mail: biochimia@yandex.ru

Mikael G. Abgaryan – PhD, Senior Researcher, Oncologist, Department of Abdominal Oncology No. 1.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8893-1894>
E-mail: abgaryan.mikael@gmail.com

Aleksei E. Kalinin – PhD, Senior Researcher, Oncologist, Department of Abdominal Oncology No. 1.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7457-3889>
E-mail: main2001@inbox.ru

Lola R. Shulumba – resident of the Surgical Department No. 1.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-6360-8932>

E-mail: lolashulu@yandex.ru

Omar A. Egenov – MD, PhD, Oncologist, Department

of Abdominal Oncology No. 1.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8681-7905>

E-mail: egenov.omar@mail.ru

Corresponding Author

Omar A. Egenov

Address: N.N. Blokhin National Medical Research

Center of Oncology, 23 Kashirskoe shosse,

Moscow, Russia, 115478.

E-mail: egenov.omar@mail.ru

Received: 01.11.2024

Accepted: 27.11.2024

Published: 02.12.2024

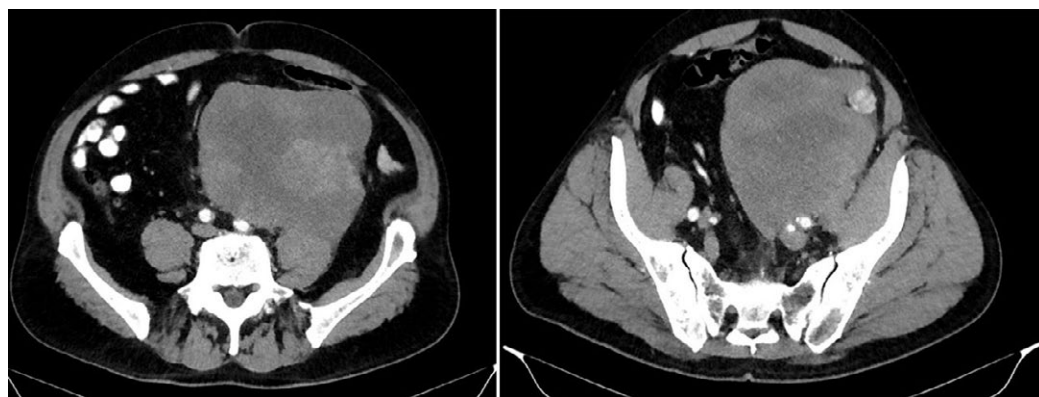
■ АКТУАЛЬНОСТЬ

Саркомы мягких тканей (СМТ) – редкие злокачественные опухоли, составляющие примерно 1% всех злокачественных новообразований у взрослых [1]. Примерно 15–20% всех СМТ возникают в забрюшинном пространстве, а пятилетняя общая выживаемость (ОВ) составляет 39–70% [2–4]. Забрюшинные саркомы (ЗС) длительное время протекают бессимптомно и обнаруживаются, когда у больного появляются жалобы на пальпируемое образование, сопровождающееся чувством быстрого насыщения, тяжестью, тупой болью в животе за счет сдавления или инвазии соседних органов и/или магистральных сосудов опухолью больших размеров [5]. Их особенностью является высокая склонность к возникновению местного рецидива и мультицентрический рост. Прогноз заболевания определяется радикальностью оперативного вмешательства, поскольку эффективная терапевтическая альтернатива лечения в настоящий момент отсутствует. Химиотерапия и лучевая терапия могут выступать в качестве комбинированного лечения либо в качестве самостоятельного метода лечения у неоперабельных больных [6]. Таким образом,

удаление опухоли en block (единым блоком), без нарушения целостности ее псевдокапсулы остается краеугольным камнем и единственным потенциально излечивающим методом лечения пациентов с ЗС [6].

Руководства по хирургическому лечению ЗС до сих пор отсутствуют и остаются спорными из-за низкой частоты ее встречаемости и соответственно отсутствия большого опыта лечения данной когорты больных [7]. Например, критерии нерезектабельности остаются неопределенными, а показания и соответствие требованиям к оперативному лечению различаются в зависимости от структурного подразделения. Пациентов с остаточной опухолью после операции часто направляют в специализированные центры, поскольку целесообразность резекции единым блоком вовлеченных в опухолевый процесс органов и магистральных сосудов необходимо определять интраоперационно.

Трансатлантическая рабочая группа недавно обновила консенсус по лечению первичных ЗС у взрослых [8], где установлены следующие критерии технической нерезектабельности: вовлечение верхней брыжеечной артерии, аорты, чревного ствола, воротной вены, костей, инвазия



в позвоночный канал; распространение лейомиосаркомы нижней полой вены в правое предсердие и инфильтрация нескольких основных органов и/или магистральных сосудов [8].

Следовательно, сосудистым резекциям при ЗС уделяется особое внимание. Однако в литературе описаны лишь единичные случаи хирургических вмешательств с резекцией магистральных сосудов по поводу забрюшинных сарком [9, 10].

Хирургическое вмешательство с резекцией магистральных сосудов в случае их вовлечения позволяет выполнить радикальную операцию и естественно улучшает отдаленные результаты [11].

В статье представлено описание уникального клинического случая успешного хирургического лечения пациента с забрюшинной неорганный липосаркомой с инвазией в аорту и левую общую подвздошную артерию.

■ КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

Пациент Ц., 62 лет, обратился в ноябре 2020 года в поликлинику НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина с жалобами на образование в брюшной полости.

По данным комплексного обследования в поликлинике по месту жительства выявлено образование забрюшинной локализации. При морфологическом исследовании биопсийного материала установлена липосаркома.

Рисунок 1. Снимки КТ до операции.

Figure 1. CT scans before surgery.

Пациент направлен в поликлинику НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина, где диагноз был подтвержден. Иммунофенотип опухоли соответствует дедифференцированной липосаркоме G3 (FNCLCC). Пролiferативная активность Ki 67 – 40%.

КТ с в/в контрастированием: в мезогипогастриальной области слева, с распространением в полость таза, определяется массивное многоузловое образование неоднородной мягкотканной структуры за счет участков пониженной плотности (некрозов) и высокоплотных включений (геморрагических), с нечеткими бугристыми контурами, размерами 14x15x16 см (**рисунок 1**).

Опухоль на большом протяжении тесно прилежит к левой поясничной и пояснично-подвздошной мышцам, на отдельных срезах без четкой границы; вовлекает левый мочеточник в его средней и нижней трети; инфильтрирует инфраренальный сегмент брюшной аорты, левую общую и наружную подвздошные артерии; частично прилежит к сигмовидной кишке и верхушке мочевого пузыря. По данным эндоскопических методов (колоноскопия и цистоскопия), прорастания в кишку и мочевой пузырь не выявлено.

Проведен консилиум и рекомендовано хирургическое вмешательство: первый этап – выполнение имплантации

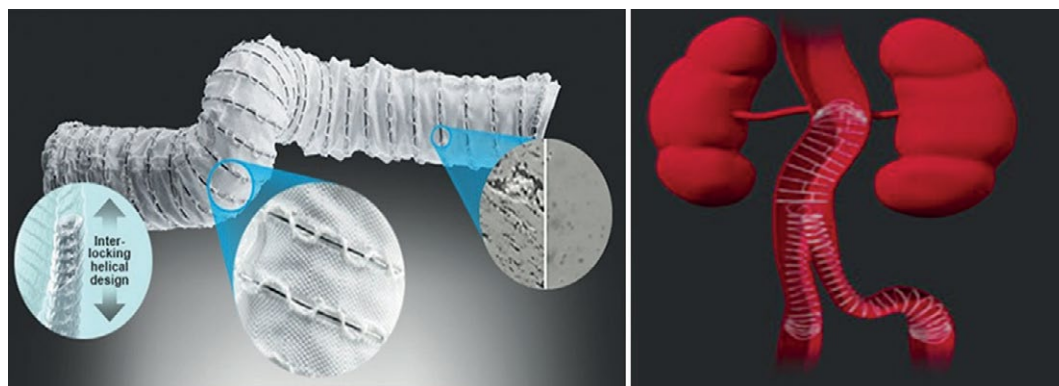


Рисунок 2. Внутрисосудистый графт-стент Aorfix.

Figure 2. Aorfix intravascular graft stent.

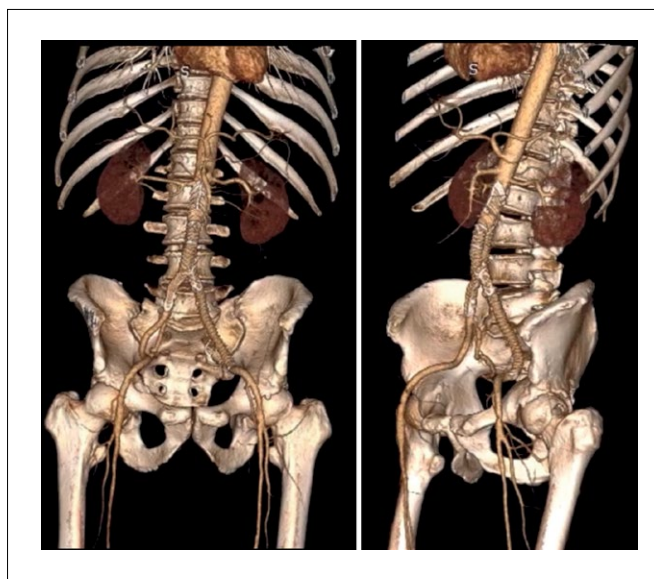


Рисунок 3. 3D-реконструкция после эндопротезирования.

Figure 3. 3D reconstruction after endoprosthetics.

внутрисосудистого протеза в условиях НМИЦ кардиологии имени А.Л. Мясникова, второй этап – удаление опухоли.

19.12.2020 г. выполнено эндопротезирование брюшного отдела аорты и левой общей подвздошной артерии эндопротезом Aorfix (**рисунок 2**).

На **рисунке 3** представлена 3D-реконструкция после эндопротезирования.

На втором этапе пациент оперирован в НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина. 02.02.2021 г. выполнено удаление опухоли с нефрэктомией и гемиколэктомией слева, резекция инфраренального сегмента брюшной аорты и левой общей подвздошной артерии. Интраоперационная ревизия: забрюшинно слева с распространением в левую подвздошную область определяется массивная опухоль, плотной консистенции, размером до 20х25х19 см в диаметре. Опухоль врастает в брыжейку нисходящей ободочной

кишки, левый мочеточник на большом протяжении проходит в толще опухоли.

Установленный ранее эндопротез расположен адекватно, без признаков экстравазации. Опухоль инфильтрирует инфраренальный сегмент аорты и левую общую подвздошную артерию. Выполнена мобилизация опухоли острым путем. Мобилизована левая половина толстой кишки. Циркулярно мобилизованы инфраренальный отдел аорты, левая и правая общие подвздошные артерии взяты на держалку. Выделены, лигированы и пересечены левые ветви средних ободочных сосудов, левые ободочно-кишечные сосуды, нижняя брыжеечная вена. Линейным сшивающе-режущим аппаратом пересечена поперечная ободочная кишка в ее средней трети, нисходящая ободочная кишка в ее дистальной трети. Мобилизована левая почка, выделены, лигированы и пересечены левые почечные сосуды и левый мочеточник. Выполнена резекция стенки аорты 3х4 см. Опухоль удалена единым блоком без нарушения целостности псевдокапсулы в комплексе с левой почкой, левой половиной ободочной кишки и стенкой инфраренального сегмента брюшной аорты протяженностью 6 см и левой общей подвздошной артерии (**рисунок 4**). Непрерывность толстой кишки восстановлена двухрядным трансверзосигмоанастомозом. Продолжительность операции – 210 минут. Кровопотеря – 350 мл.

Плановое гистологическое заключение: дедифференцированная липосаркома, G3 (FNCLCC), края резекции чистые – R0 (**рисунок 5**).

Послеоперационный период протекал без осложнений, пациент выписан на 15-е сутки в удовлетворительном состоянии.

■ ОБСУЖДЕНИЕ

В работе представлен клинический случай успешного двухэтапного хирургического лечения пациента с забрюшинной липосаркомой и использованием технологий эндопротезирования брюшного отдела аорты и левой общей подвздошной артерии на первом этапе. Решение о сосудистой реконструкции должно основываться на

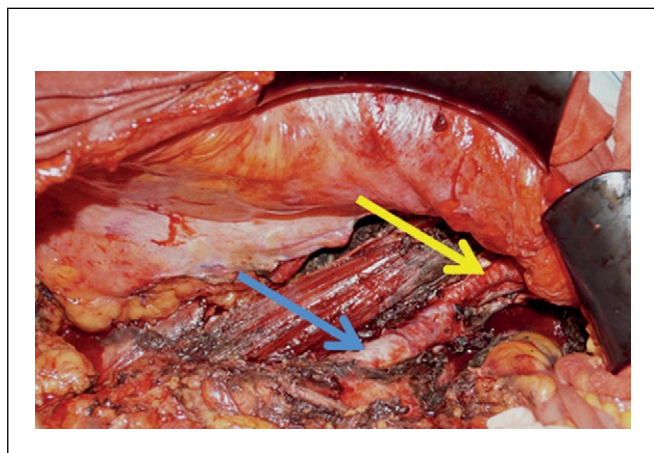


Рисунок 4. Вид после удаления опухоли. Синяя стрелка – эндопротез Aorfix инфраренального сегмента брюшной аорты, желтая – эндопротез Aorfix левой общей подвздошной артерии.

Figure 4. View after tumor removal. Blue arrow – Aorfix endoprosthesis of the infrarenal segment of the abdominal aorta, yellow – Aorfix endoprosthesis of the left common iliac artery.



Рисунок 5. Макропрепарат.

Figure 5. Macropreparation.

комплексной оценке распространенности опухолевого процесса, степени злокачественности опухоли, вовлеченных органов и общего состояния пациента. В единственном метаанализе, опубликованном Н. Ну и соавт. [12] в 2023 году, сообщается, что агрессивный хирургический подход с резекцией вовлеченных в опухолевый процесс магистральных сосудов может обеспечить достижение R0/R1 резекции и улучшить отдаленные результаты лечения с приемлемой частотой клинически значимых послеоперационных осложнений. Непосредственные и отдаленные результаты лечения больных с сосудистыми резекциями были сопоставимы с результатами лечения пациентов, где производилось только удаление опухоли, что свидетельствует о безопасности сосудистых реконструкций при правильном мультидисциплинарном подходе к лечению [12].

В обзоре литературы, опубликованном D. Tzanis и соавт. в 2018 году, также сообщается, что резекция и реконструкция магистральных сосудов при en bloc удалении забрюшинных сарком могут быть выполнены безопасно [13]. Авторы сообщили об идентичных краткосрочных и долгосрочных результатах как в группе сосудистых резекций, так и в группе без нее. Аналогичные данные были опубликованы и в предыдущих исследованиях [14–16]. Важность достижения R0 резекции и его корреляция с показателями выживаемости была представлена в работе S. Тореа и соавт. (2012): общая выживаемость при достижении R0 резекции была выше, чем при R1 резекции, а при R1 резекции лучше, чем при R2 резекции [16].

О.И. Каганов и соавт. (2020) в своей работе сообщили, что предоперационная трансартериальная эмболизация питающих опухоль сосудов, особенно тех, которые питаются

из ветвей поясничных артерий, средней крестцовой артерии или внутренней подвздошной артерии, может значительно снизить интраоперационную кровопотерю, время операции и частоту послеоперационных осложнений [18].

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Примененная в нашей работе методика двухэтапного хирургического лечения с использованием эндопротезирования магистрального сосуда на первом этапе по сравнению с одномоментной резекцией и протезированием обладает следующими преимуществами.

1. Не требуется выполнение интраоперационного протезирования сосуда.
2. Отсутствие пережатия брюшной аорты и подвздошных артерий для формирования анастомозов.
3. Минимальный объем кровопотери и сокращение времени операции.
4. Снижение риска тромбоза и эмболии.

Учитывая вышеперечисленные преимущества, данная методика может быть рекомендована при забрюшинных сарcomaх с инвазией в магистральные сосуды.

Таким образом, en bloc резекция с вовлеченными крупными сосудами позволяет выполнить радикальную операцию, необходимую для адекватного локального контроля. Агрессивный подход с резекцией вовлеченных магистральных сосудистых структур является безопасным, с эквивалентными, как в группе без сосудистых резекций, показателями частоты осложнений, а также безрецидивной и общей выживаемости.

Опухолевая инвазия в крупные кровеносные сосуды не является противопоказанием к операции и не является критерием технической нерезектабельности. ■

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ	ADDITIONAL INFORMATION
Источник финансирования. Работа выполнена по инициативе авторов без привлечения финансирования.	Study funding. The study was the authors' initiative without external funding.
Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием настоящей статьи.	Conflict of interest. The authors declare that there are no obvious or potential conflicts of interest associated with the content of this article.
Участие авторов. Стилиди И.С. – выполнение операции, концепция и дизайн исследования, редактирование, утверждение окончательного варианта статьи. Абгарян М.Г., Калинин А.Е. – ассистенция на операции, концепция и дизайн исследования. Шулумба Л.Р. – сбор материала. Егенов О.А. – ассистенция на операции, концепция и дизайн исследования, написание статьи. Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.	Contribution of individual authors. Stilidi I.S. – execution of the surgery, concept and design of the study, editing, approval of the final version of the article. Abgaryan M.G., Kalinin A.E. – surgical assistance, research concept and design. Shulumba L.R. – collecting of the material. Egenov O.A. – surgical assistance, research concept and design, writing of the article. All authors gave their final approval of the manuscript for submission, and agreed to be accountable for all aspects of the work, implying proper study and resolution of issues related to the accuracy or integrity of any part of the work.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer Statistics, 2022. *CA Cancer J Clin*. 2022;72(1):7-33. DOI: <https://doi.org/10.3322/caac.21708>
2. Porter GA, Baxter NN, Pisters PW. Retroperitoneal sarcoma: a population-based analysis of epidemiology, surgery, and radiotherapy. *Cancer*. 2006;106(7):1610-6. DOI: <https://doi.org/10.1002/cncr.21761>
3. Dingley B, Fiore M, Gronchi A. Personalizing surgical margins in retroperitoneal sarcomas: an update. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2019;19(7):613-31. DOI: <https://doi.org/10.1080/14737140.2019.1625774>
4. Atakhanova NE, Tursunova NI, Yahyaeva VK. Clinical case of surgical treatment of a malignant tumor from the sheaths of peripheral nerves of retroperitoneal localization. *Surgery and Oncology*. 2023;13(4):62-7. [Атаханова Н.Э., Турсунова Н.И., Яхяева В.К., и др. Клинический случай хирургического лечения злокачественной опухоли из оболочек периферических нервов брюшной локализации. *Хирургия и онкология*. 2023;13(4):62-7]. DOI: <https://doi.org/10.17650/2949-5857-2023-13-4-62-67>
5. Bonvalot S, Gronchi A, Le Péchoux C, et al. Preoperative radiotherapy plus surgery versus surgery alone for patients with primary retroperitoneal sarcoma (EORTC-62092: STRASS): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2020;21(10):1366-77. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(20\)30446-0](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(20)30446-0)
6. Fairweather M, Gonzalez RJ, Strauss D, Raut CP. Current principles of surgery for retroperitoneal sarcomas. *J Surg Oncol*. 2018;117(1):33-41. DOI: <https://doi.org/10.1002/jso.24919>
7. Gronchi A, Strauss DC, Miceli R, et al. Variability in patterns of recurrence after resection of primary retroperitoneal sarcoma (RPS): A Report on 1007 Patients From the Multi-institutional Collaborative RPS Working Group. *Ann Surg*. 2016;263(5):1002-9. DOI: <https://doi.org/10.1097/SLA.0000000000001447>
8. Swallow CJ, Strauss DC, Bonvalot S, et al. Transatlantic Australasian RPS Working Group (TARPSWG). Management of primary retroperitoneal sarcoma (RPS) in the adult: an updated consensus approach from the Transatlantic Australasian RPS Working Group. *Ann Surg Oncol*. 2021;28(12):7873-88. DOI: <https://doi.org/10.1245/s10434-021-09654-z>
9. Radaelli S, Fiore M, Colombo C, et al. Vascular resection en-bloc with tumor removal and graft reconstruction is safe and effective in soft tissue sarcoma (STS) of the extremities and retroperitoneum. *Surg Oncol*. 2016;25(3):125-31. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.suronc.2016.05.002>
10. Quinones-Baldrich W, Alktaifi A, Eilber F, Eilber F. Inferior vena cava resection and reconstruction for retroperitoneal tumor excision. *J Vasc Surg*. 2012;55(5):1386-93. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2011.11.054>
11. Spolverato G, Chiminazzo V, Lorenzoni G, et al. Oncological outcomes after major vascular resections for primary retroperitoneal liposarcoma. *Eur J Surg Oncol*. 2021;47(12):3004-10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2021.06.035>
12. Hu H, Guo Q, Zhao J, et al. Aggressive surgical approach with vascular resection and reconstruction for retroperitoneal sarcomas: a systematic review. *BMC Surg*. 2023;23(1):275. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12893-023-02178-1>
13. Tzanis D, Bouhadiba T, Gaignard E, Bonvalot S. Major vascular resections in retroperitoneal sarcoma. *J Surg Oncol*. 2018;117(1):42-7. DOI: <https://doi.org/10.1002/jso.24920>
14. Ikoma N, Roland CL, Torres KE, et al. Concomitant organ resection does not improve outcomes in primary retroperitoneal well-differentiated liposarcoma: a retrospective cohort study at a major sarcoma center. *J Surg Oncol*. 2018;117(6):1188-94. DOI: <https://doi.org/10.1002/jso.24951>
15. Chiappa A, Bertani E, Pravettoni G, et al. Aggressive Surgical Approach for treatment of primary and recurrent retroperitoneal soft tissue sarcoma. *Indian J Surg*. 2018;80(2):154-62. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12262-018-1722-7>
16. Tropea S, Mocellin S, Damiani GB, et al. Recurrent retroperitoneal sarcomas: clinical outcomes of surgical treatment and prognostic factors. *Eur J Surg Oncol*. 2012;47(5):1201-6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2020.08.030>
17. Guo Q, Zhao J, Du X, Huang B. Survival outcomes of surgery for retroperitoneal sarcomas: a systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE*. 2022;17(7):e0272044. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0272044>
18. Kaganov OI, Kozlov SV, Orlov AE, et al. Single-center experience of surgical treatment of primary retroperitoneal tumors. *Indian J Surg Oncol*. 2020;11(1):412-7. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13193-020-01088-5>

Certain pathomorphological features of isolated sphenoiditis

Roman A. Larin¹, Artem S. Grishin², Polina P. Mokeeva³

¹Regional Clinical Hospital named after N.A. Semashko (Nizhny Novgorod, Russian Federation)

²Privolzhskiy Research Medical University (Nizhny Novgorod, Russian Federation)

³Children's City Clinical Hospital No. 1 (Nizhny Novgorod, Russian Federation)

Abstract

Aim – to study the pathomorphological features of various forms of isolated sphenoiditis.

Material and methods. We analyzed the data of surgical biopsy material of 23 patients aged 18 to 68 years who were on inpatient treatment at the Regional Clinical Hospital named after N.A. Semashko in the period of 2019–2022.

Results. In our study, it was found that in the structure of isolated sphenoiditis, the most common is the polypous-cystic form of the sphenoidal sinus lesion, which is diagnosed statistically significantly more often than the fungal isolated sphenoiditis ($p=0.001$). The results of the pathomorphological study in all our observations showed a picture of a nonspecific chronic inflammatory process. As a rule, we observed a mucous membrane lined with atrial respiratory epithelium with varying degrees of edema of the plate. In our observations, as a rule, the structure of the epithelium was normal, and the most frequent change was local desquamation in the polypous and cystic forms and sphenchoanal polyp. In the case of mucocoele, a local decrease in epithelial height was revealed without reliable signs of squamous cell metaplasia. In the case of the polypous-purulent form, local desquamation occurs, but with areas of atrophy. In polypous fungal forms, only signs of local desquamation were found. The change in the ratio of goblet, supporting and ciliated cells concerned, as a rule, changes in the number of goblet-shaped cells towards an increased (polypous, cystic forms), normal (sphenchoanal polyp) or reduced (fungal, mucocoele, polypous-purulent) quantity. The basement membrane was of the usual structure (in polypous-purulent and fungal forms), in some cases thickened. The most pronounced thickening was registered in the case of sphenchoanal polyp, to a lesser extent, in polypous sphenoiditis with bright eosinophilic infiltration, minimally in mucocoele. We observed the most active inflammation in the proper plate (with signs of edema) of

the mucous membrane in the polypous form, in other forms of lesion this manifestation was moderate (fungal) or reduced (cyst). Edema of the lamina was most pronounced in the polypous form; minimal edema was seen in the sphenchoanal polyp, polypous-fungal form, and there was no edema in other forms. The data obtained indicate that at the time of the interventions, the process in the sinus was not aggravated. The range of features characteristic exclusively of a particular morphology of the lesion identified in our studies is minimal. The pathomorphological landscape of lesions of the sphenoid sinus, obtained in our study, generally corresponds to the picture of lesions of other groups of paranasal sinuses.

Conclusions. Against the background of a huge number of cases of acute and chronic rhinosinusitis, the absolute prevalence of isolated sphenoiditis, even with a relative magnitude of 5% of the total, is also very significant. Determining the phenotypes of isolated sphenoiditis is very important for building a consistent treatment strategy, especially against the background of a large number of tactical and diagnostic errors. For more effective and visual performance of such data analysis, we have developed a “Checklist for pathomorphological examination in pathology of the sphenoid sinus”. The pathomorphological landscape of lesions of the sphenoid sinus, obtained in our study, generally corresponds to the picture of lesions of other groups of paranasal sinuses. Examination of the autopsy material showed the presence of polypous changes in the sphenoid sinus and obstruction of the anastomosis in almost half of the observations.

Keywords: isolated sphenoiditis, phenotypes, endoscopic sphenotomy, pathomorphological changes.

Conflict of interest: nothing to disclose.

Citation

Larin RA, Grishin AS, Mokeeva PP. **Certain pathomorphological features of isolated sphenoiditis.** *Science and Innovations in Medicine*. 2024;9(4):303–310.
DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM636696>

Information about authors

Roman A. Larin – Head of Otorhinolaryngology Department No. 1.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3800-6710>
E-mail: info.lor@mail.ru

Artem S. Grishin – doctor of the pathology department.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7885-8662>
E-mail: zhest8242@mail.ru

Polina P. Mokeeva – otorhinolaryngologist.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5611-0709>
E-mail: polinasuzaeva@yandex.ru

Corresponding Author

Polina P. Mokeeva

Address: Children's City Clinical Hospital No. 1, 76 Gagarin ave.,
Nizhny Novgorod, Russia, 603081.
E-mail: polinasuzaeva@yandex.ru

Received: 03.10.2024

Accepted: 12.11.2024

Published: 27.11.2024

Некоторые патоморфологические особенности изолированного сфеноидита

Р.А. Ларин¹, А.С. Гришин², П.П. Мокеева³

¹ГБУЗ НО «Нижегородская областная клиническая больница имени Н.А. Семашко»
(Нижний Новгород, Российская Федерация)

²ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России
(Нижний Новгород, Российская Федерация)

³ГБУЗ НО «Детская городская клиническая больница №1 Приокского района г. Нижнего Новгорода»
(Нижний Новгород, Российская Федерация)

Аннотация

Цель – изучить патоморфологические особенности различных форм изолированного сфеноидита.

Материал и методы. Проанализированы данные операционно-биопсийного материала 23 пациентов в возрасте от 18 до 68 лет, находившихся на стационарном лечении в Нижегородской областной клинической больнице имени Н.А. Семашко в период 2019–2022 годы.

Результаты. Установлено, что в структуре изолированного сфеноидита наиболее распространенной является полипозно-кистозная форма поражения клиновидной пазухи, которая диагностируется статистически значимо чаще, чем грибковые формы ($p=0,001$). Результаты патоморфологического исследования во всех наших наблюдениях показали картину неспецифического хронического воспалительного процесса. Как правило, мы наблюдали слизистую оболочку, выстланную мерцательным реснитчатым эпителием с различной степенью выраженности отека собственной пластинки. В наших наблюдениях структура эпителия обычно была нормальной, наиболее частое изменение – локальная десквамация при полипозных, кистозных формах и сфенохоанальном полипе. При мукоцеле выявлено локальное снижение высоты эпителия без достоверных признаков плоскоклеточной метаплазии. При полипозно-гноной форме – локальная десквамация, но с участками атрофии. При полипозно-грибковых формах также были установлены только признаки локальной десквамации. Изменение соотношения бокаловидных, поддерживающих и реснитчатых клеток связано, как правило, с изменением количества бокаловидных клеток, которое может быть увеличенным (при полипозной, кистозной формах), нормальным (при сфенохоанальном полипе) или уменьшенным (при мукоцеле, грибковом, полипозно-гноном изолированном сфеноидите). Базальная мембрана была обычного строения (при полипозно-гноных и грибковых формах), в ряде случаев утолщена. Наиболее выраженное утолщение зафиксировано при сфенохоанальном полипе, в меньшей степени – при полипозном сфеноидите с яркой эозинофильной инфильтрацией, минимально – при мукоцеле.

Наиболее активное воспаление в собственной пластинке (с признаками отека) слизистой оболочки наблюдалось при полипозной форме, при других формах поражения данный признак был умеренным (грибковый изолированный сфеноидит) или сниженным (киста). Отек собственной пластинки был наиболее выражен при полипозной форме, минимальный отек – при сфенохоанальном полипе, полипозно-грибковой форме, при других формах отек отсутствовал. Полученные данные свидетельствуют о том, что на момент выполнения вмешательств процесс в пазухе был вне обострения. Спектр особенностей, характерных исключительно для той или иной морфологии поражения, выявленных в наших исследованиях, минимален. Патоморфологический пейзаж поражений клиновидной пазухи, полученный в нашем исследовании, в целом соответствует картине при поражении других групп околоносовых пазух.

Выводы. На фоне огромного числа случаев острого и хронического риносинуситов абсолютные цифры распространенности изолированного сфеноидита, даже при относительной величине в 5% от общего количества, также весьма значительны. Определение фенотипов изолированного сфеноидита очень важно для построения последовательной лечебной стратегии, учитывая большое количество тактико-диагностических ошибок. Для более эффективного и наглядного выполнения такого анализа данных нами разработан «Чек-лист патоморфологического исследования при патологии клиновидной пазухи». Патоморфологический пейзаж поражений клиновидной пазухи, полученный в нашем исследовании, в целом соответствует картине при поражении других групп околоносовых пазух. Исследование аутопсийного материала показало наличие полипозных изменений в клиновидной пазухе и обструкции соустья почти в половине наблюдений.

Ключевые слова: изолированный сфеноидит, фенотипы, эндоскопическая сфенотомия, патоморфологические изменения.

Конфликт интересов: не заявлен.

Для цитирования:

Ларин Р.А., Гришин А.С., Мокеева П.П. Некоторые патоморфологические особенности изолированного сфеноидита. Наука и инновации в медицине. 2024;9(4):303–310.

DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM636696>

Сведения об авторах

Ларин Р.А. – заведующий оториноларингологическим отделением №1.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3800-6710>

E-mail: info.lor@mail.ru

Гришин А.С. – врач патологоанатомического отделения.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7885-8662>

E-mail: zhest8242@mail.ru

Мокеева П.П. – врач-оториноларинголог.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5611-0709>

E-mail: polinasuzaeva@yandex.ru

Список сокращений

ИС – изолированный сфеноидит; ОНП – околоносовая пазуха;

КП – клиновидная пазуха.

Адрес для переписки

Мокеева Полина Петровна

Адрес: Детская городская клиническая больница №1,

пр. Гагарина, 76, г. Нижний Новгород, Россия, 603081.

E-mail: polinasuzaeva@yandex.ru

Получено: 03.10.2024

Одобрено: 12.11.2024

Опубликовано: 27.11.2024

■ INTRODUCTION

Diagnostics and treatment of isolated sphenoiditis (IS) remain vital, especially with the vast implementation of radiological diagnostics in the clinical practice thus allowing identification of latent forms of IS [1–4]. The incidence rate of IS in the total structure of diseases of paranasal sinuses is not more than 5%; at the same time, up to 80% of all diseases are due to inflammatory pathology, and chronic diseases prevail [5, 6]. Patients with chronic progression of IS do not constitute a large group in absolute figures, but it is this group that

requires surgical treatment most often, and the specific ratio of tactical and diagnostic error in this patient group remains high [7]. In the chronic forms of IS, polypous and cystic and mycotic lesions of the sphenoidal sinus prevail. At the same time, the literature data on nosological forms are often contradictory, and the description of the pathomorphological picture, important both for understanding the mechanisms of development of the pathological process and for predicting the course of the chronic process in IS, is found in a very limited number of studies [8–9].

■ AIM

To study the pathomorphological features of various forms of isolated sphenoiditis.

■ MATERIAL AND METHODS

We analyzed the data of surgical biopsy material of 23 patients aged 18 to 68 years who were on inpatient treatment at the Nizhny Novgorod Regional Clinical Hospital named after N.A. Semashko in the period of 2019-2022.

Inclusion criteria: isolated sphenoiditis diagnosed under the recommendations effective at the time (EPOS 2007-2020, Russian clinical recommendations), radiological (CT, MRI) signs of pathological process in the sphenoidal sinus, symptomatic and latent forms of sphenoiditis.

Exclusion criteria: combined lesions of other groups of paranasal sinuses, nosocomial sphenoiditis, malignant tumor.

All patients underwent a comprehensive clinical check-up, examination of the ENT organs, and an endoscopic examination. Surgeries were performed on the Karl Storz endosurgical complex under the control of rigid endoscopes with viewing angles of 0, 30, 45 and 70 degrees, photo and video recording were performed.

A pathomorphological examination was performed. The surgical material was fixed in 10% formalin. After fixation, the samples were sent for standard histological processing on the Excelsior ES apparatus (Thermo Scientific, USA). Filling into paraffin blocks was carried out using the HistoStar filling station (Thermo Scientific, USA). After filling, paraffin blocks were made. Serial sections of 5 microns thickness were obtained on the Microm HM 325 microtome (Thermo Scientific, USA). Sections were stained with hematoxylin and eosin on the Gemini AS staining station (Thermo Scientific, USA). The staining protocol included primary removal of paraffin and demasking for 20 minutes at 98-99°C. The morphological examination was performed on the Nikon Eclipse E400 microscope with x5, x10, x20, x40 and x100 lenses, x10 eyepiece, visual field diameter 22 mm. The digital archive of the obtained material was made using the Leica 2500 microscope (Leica Biosystems, UK) and a digital scanning microscope.

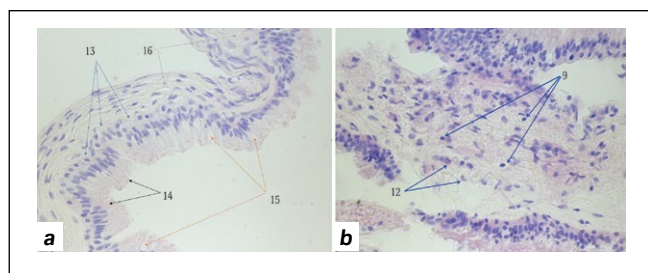


Figure 1. Retention cyst preparation. Color: hematoxylin and eosin. Magnification x100.

a) 13 – basement membrane; 14 – cylindrical ciliated cells of the respiratory epithelium; 15 – goblet cells; 16 – proper plate of the mucous membrane. b) 9 – lymphocytes; 12 – single segmented leukocytes.

Рисунок 1. Препарат ретенционной кисты. Окраска: гематоксилин и эозин. Увеличение x100.

а) 13 – базальная мембрана; 14 – цилиндрические реснитчатые клетки респираторного эпителия; 15 – бокаловидные клетки; 16 – собственная пластинка слизистой оболочки. б) 9 – лимфоциты; 12 – единичные сегментоядерные лейкоциты.

During the pathomorphological examination, the state of the pseudostratified ciliated epithelium was assessed: presence of the epithelium metaplasia/atypia, cell composition ratio; condition of the basement membrane and proper plate of the mucosa, composition of the inflammatory cells (lymphocytes, leukocytes, neutrophils, eosinophils, plasmocytes, etc.), and strength of inflammation. In fungal processes, additional PAS-staining was performed to identify the strands of the mycelium (hyphae). In PAS-staining, some fungi become bright pink or purple. PAS also stains glycogen, some mucins, basement membrane, hyalin, and some fibers.

In order to ensure unification of the pathomorphological examination data, we designed and implemented the “Checklist for pathomorphological examination in pathology of the sphenoid sinus”.

■ RESULTS

In the studied group of patients, there was a prevalence of polypous-cystic forms of isolated sphenoiditis that were diagnosed in 15/23 (65.3%) of patients. Mycotic lesion of the sphenoid sinus was diagnosed in 7/23 (30.4%) of examined patients, and in 1/23 (4.3%) of patients, a neoplasm was

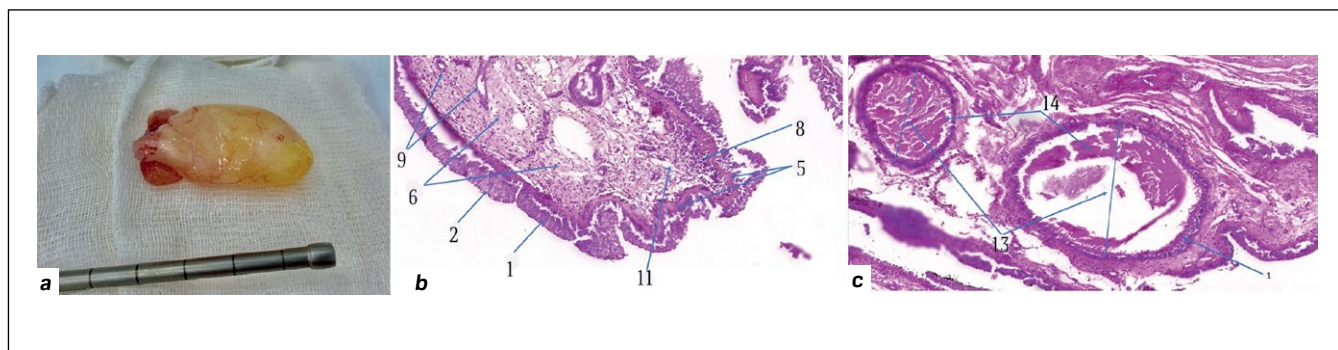


Figure 2. Preparation of a sphenchoanal polyp.

a) sphenchoanal polyp, macro-preparation.

b) 1 – cylindrical respiratory epithelium; 2 – goblet cells; 5 – thickened basement membrane; 6 – proper plate; 8 – inflammatory infiltration; 9 – capillaries; 11 – signs of edema.

c) 1 – cylindrical respiratory epithelium; 13 – cystic structures; 14 – structureless eosinophilic contents of cysts.

Рисунок 2. Препарат сфенохоанального полипа.

а) сфенохоанальный полип, макропрепарат.

б) 1 – цилиндрический респираторный эпителий; 2 – бокаловидные клетки; 5 – утолщенная базальная мембрана; 6 – собственная пластинка; 8 – воспалительная инфильтрация; 9 – капилляры; 11 – признаки отека.

с) 1 – цилиндрический респираторный эпителий; 13 – кистозные структуры; 14 – бесструктурное эозинофильное содержимое кист.

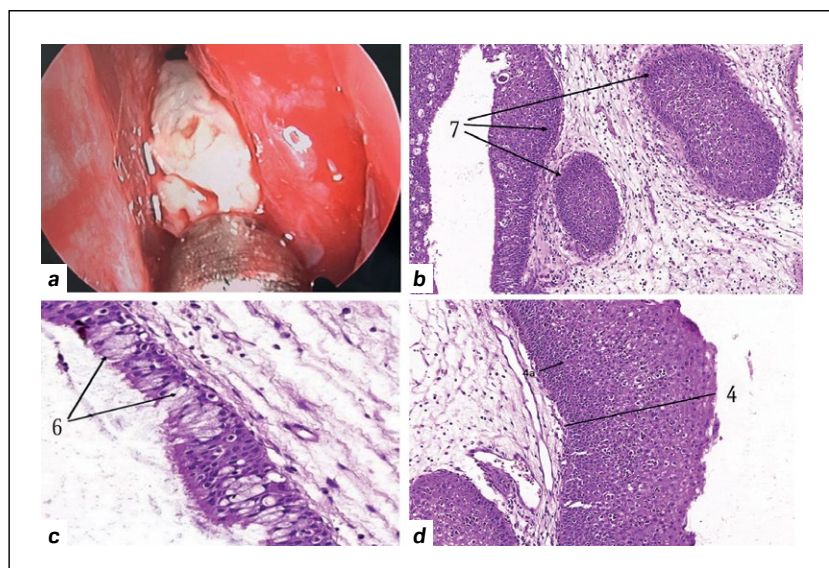


Figure 3. Inverted papilloma preparation.

a) removal of papilloma (endoscopic image).
b) 7 – endophytic intraepithelial complexes. The inverted component of the papilloma.
c) 6 – goblet cells (mucocytes). Respiratory pseudostratified ciliated epithelium.
d) 4 – hyperplastic multilayered flat non-keratinized epithelium; 4a – basal layer.

Рисунок 3. Препарат инвертированной папилломы.

a) удаление папилломы (эндоскопическое изображение).
b) 7 – эндофитные внутрисстеночные комплексы эпителия. Инвертированный компонент папилломы.
c) 6 – бокаловидные клетки (мукоциты). Респираторный псевдомногослойный реснитчатый эпителий.
d) 4 – гиперплазированный многослойный плоский неороговевающий эпителий; 4a – базальный слой.

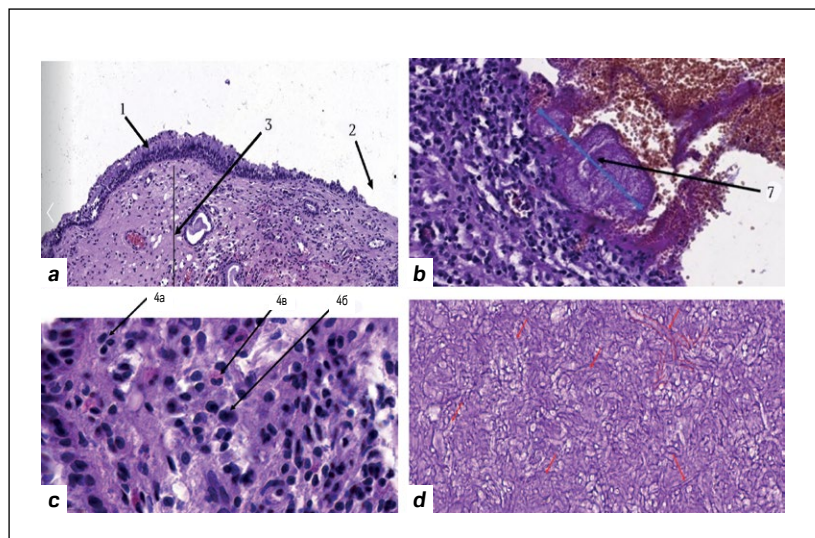


Figure 5. Fungal form of sphenoiditis.

a) 1 – pseudostratified epithelium; 2 – site of local desquamation; 3 – stromal part.
b) 7 – fibrin. PAS staining.
c) 4a – lymphocytes, 4b – plasmacytes, 4c – eosinophils in the proper plate.
d) hyphae are filamentous (ribbon-like) structures that are tightly intertwined with each other, forming a single mass (red arrows, circled in red).

Рисунок 5. Грибковая форма сфеноидита.

a) 1 – псевдомногослойный эпителий; 2 – участок локальной десквамации; 3 – стромальная часть.
b) 7 – фибрин. PAS окрашивание.
c) 4a – лимфоциты, 4б – плазмоциты, 4в – эозинофилы в собственной пластинке.
d) гифы нитевидные (лентовидные) структуры, которые плотно сплетены друг с другом, образуя единую массу (красные стрелки, обведены красным).

found, the sphenoid sinus inverted papilloma. The median age of patients with polypous-cystic and mycotic forms of IS was 46.5 [35.0;59.0] years. The age of patients with mycotic IS was statistically significantly higher than that of patients with polypous-cystic IS ($p=0.03$). On the whole,

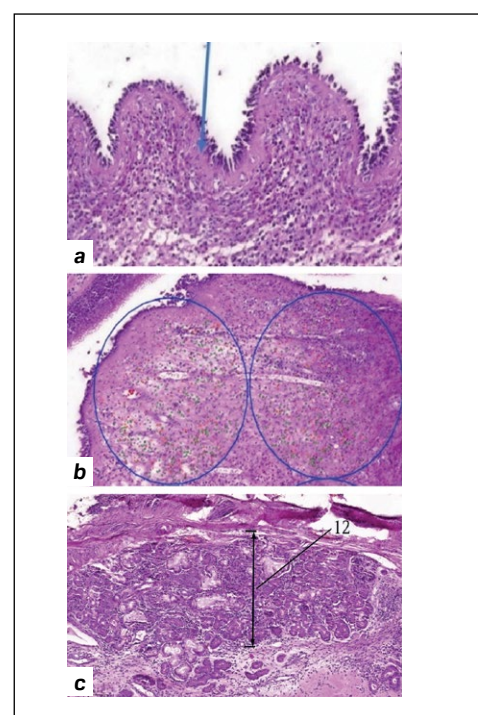


Figure 4. Preparation of polypous sphenoiditis.

a) blue arrow – the basement membrane is thickened, brightly eosinophilic – eosinophils.
b) illuminated eosinophils, entirely in the fields of view under high magnification ($\times 400$).
c) 12 – clusters of glands.

Рисунок 4. Препарат полипозного сфеноидита.

a) синяя стрелка – базальная мембрана утолщена, ярко-эозинофильная – эозинофилы.
b) подсвеченные эозинофилы, сплошь в полях зрения под большим увеличением ($\times 400$)
c) 12 – скопления желез.

within the examined sample IS was more often diagnosed in women. No statistically significant gender differences were found in patients with polypous-cystic and mycotic forms of IS ($p=0.5$).

The clinical examples of examination of pathomorphological material in different phenotypes of IS are shown in **Figures 1-5**.

For each preparation, an analysis of the data obtained using the checklist we developed was carried out (**Fig. 6**).

The analysis of pathomorphological changes in the mucous membrane depending on the phenotype revealed the following data. In the polypous form of the lesion, there were signs of local desquamation of the epithelium; in the surface epithelium, goblet-shaped cells prevailed, the basement membrane was thickened in the majority of specimens, proper plate was in the state of marked edema with highly active inflammation and prevailing eosinophils and plasmacytes. Distinctive

features include pronounced tissue eosinophilia and villous structures on the surface of the mucosa.

The polypous-purulent of the lesion was mainly characterized by epithelial changes in the form of local desquamation and/or atrophy, prevalence of goblet-shaped

“Checklist for the study of pathomorphological material in sphenoidal sinus pathology”

1. Lesion phenotype: **polypous-mycotic**
2. Epithelium: pseudo-multilayered ciliated cylindrical
 - 2.1. Epithelium features: normal, locally desquamated
 - 2.2. Number of cells (tentative):
 - Goblet-shaped cells: decreased
 - Ciliated cells: normal
 - Basement cells: normal
3. Basement membrane: normal
4. Proper plate:
 - 4.1. Inflammation degree (cellular density of inflammatory infiltration): marked
 - 4.2. Inflammation activity (neutrophil infiltration, necrosis, defects): moderate
 - 4.3. Inflammation cells (approx. percentage from total number): lymphocytes 60%, neutrophils 15%, plasmacytes 20%, eosinophils 5%, macrophages (histiocytes) approx. 1%.
 - 4.4. Other morphological specifics: hyperplasia of glands.
 - 4.5. Foreign matter: fungi (separate fragments)
5. Notes: the superficial epithelium is artificially lost over a large area. There are zones of hemorrhage of an artificial nature. One of the preparations is a large fungal cluster. Reliable signs of fungal spread into the mucous membrane and vascular invasion were not found in the studied material.

Figure 6. Checklist for the study of pathomorphological material.
Рисунок 6. Чек-лист исследования патоморфологического материала.

cells, thickened basement membrane, infiltration of the proper plate mainly by lymphocyte and plasmacyte type cells with moderately active inflammation, minimal edema and the specific feature of neutrophil penetration between the cells of respiratory epithelium.

The cystic form was characterized by changes in the integumentary epithelium in the form of local dystrophy, prevalence of goblet cells, and a normal basement membrane. The cellular composition of the proper plate was mainly lymphocytes and segmental leukocytes with low inflammation activity and no edema. In the superficial sections, isolated small clusters of seromucous glands can be seen.

In the polypous-mycotic form, sections of local dystrophy of the epithelium were seen with prevalence of goblet-shaped cells, thickened basement membrane, limphoplasmacytic infiltration of the proper plate with moderate inflammation activity and minimal edema. Specific features include presence of minor dense lymphoid accumulations, areas of granulation tissue, and foci of mild edema.

As part of the pathomorphological study, an additional study on cadaveric material was performed. The condition of sphenoid sinus was studied during the pathological anatomical

dissection of the corpses of patients (10 in total) who did not have a lifetime diagnosis of "chronic sphenoiditis". After opening the cranial cavity, the structures of the *sella turcica* were removed and a wide view of the sinus was provided. An assessment was made of the condition of the mucous membrane, the natural anastomosis, and the possibility of its drainage using a transnasal probe. The images are shown in **Fig. 7**.

DISCUSSION

According to the updated EPOS 2020 classification, isolated sphenoid sinus lesions are defined as primary localized sinusitis, with or without polyps, with a predominant non-T-2 endotype of inflammation [10]. Considering the large number of tactical and diagnostic errors in this group of patients, accurate differential diagnosis of phenotypes is especially important [11-13]. Our study found that within the structure of isolated sphenoiditis the most prevalent is the polypous-cystic type of sphenoid sinus lesion, statistically diagnosed more frequent than mycotic isolated sphenoiditis ($p=0.001$).

Analyzing the pathomorphological changes in the mucosa in the isolated sphenoiditis, researchers note the predominance of histiolymphocytic, eosinophilic and plasmacytic infiltration of the proper plate of the mucous membrane, the formation of lymphoid follicles. Development of serous edema, plethora with hemorrhages, and

emergence of tissue macrophages are also observed. These changes are seen as manifestations of stress of the immune processes playing an important role in the sustenance of the chronic inflammation. The inflammatory infiltration with lymphocytes, neutrophils and plasmacytes is most expresses in the purulent rather than catarrhal form. A detailed description of the pathomorphological features of isolated sphenoiditis is given in the fundamental works of S.Z. Piskunov *et al.* (2004) and G.Z. Piskunov *et al.* (2017) [9, 14].

The results of the pathomorphological study in all our observations showed a picture of a non-specific chronic inflammatory process. As a rule, the mucous membrane lined with ciliated respiratory epithelium with varying degrees of swelling of the proper plate was observed. Chronic inflammations of the paranasal sinuses are known to have areas of atypy, squamous metaplasia, or mixed respiratory epithelium [14, 15]. In our observations, as a rule, the epithelium structure was normal, and the most frequent change was local desquamation in polypous and cystic forms and in the case of the sphenchoanal polyp. In the mucocoele, the local decrease of epithelium height was observed without credible signs of squamous metaplasia. In cases of polypous-purulent form, local desquamation was observed with areas of atrophy. In polypous-mycotic forms, only signs of local desquamation were identified. The change in the ratio of

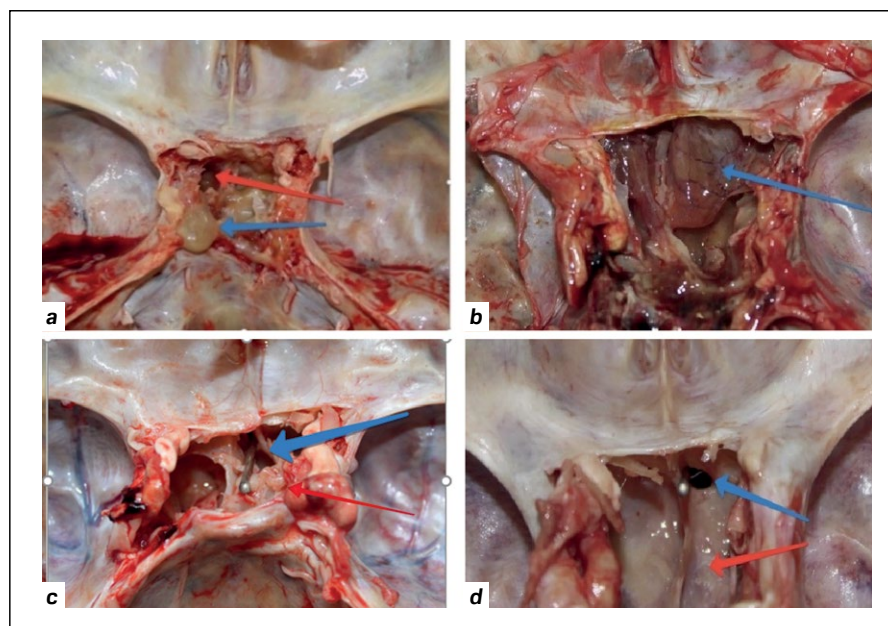


Figure 7. Sphenoid sinus field of removal of the Turkish saddle. Cadaverous material.
a) polyp of the sphenoid sinus (blue arrow). The natural anastomosis is covered with an edematous mucous membrane (red arrow).
b) a large polyp that encircles the natural anastomosis (blue arrow).
c) the probe is inserted through the anastomosis into the sinus, an edematous polyposally altered mucosa (red arrow) is visible in the area of the anastomosis (blue arrow).
d) the probe is inserted through an unchanged, gaping anastomosis (blue arrow), unchanged mucous membrane (red arrow).

Рисунок 7. Клиновидная пазуха после удаления турецкого седла. Кадаверный материал.

а) полип клиновидной пазухи (синяя стрелка). Естественное соустье прикрыто отечной слизистой оболочкой (красная стрелка).
б) большой полип, обтурирующий естественное соустье (синяя стрелка).
в) зонд введен через соустье в пазуху, видна отечная полипозно измененная слизистая (красная стрелка) оболочка в области соустья (синяя стрелка).
г) зонд введен через неизменное, зияющее соустье (синяя стрелка), неизменная слизистая оболочка (красная стрелка).

goblet-shaped, supporting and ciliated cells (one of important criteria of morphological condition of the mucosa in a chronic inflammation) was usually related to the increase in the amount of goblet-shaped cells (polypous and cystic forms), their normal amount (sphenchoanal polyp) or decrease of the said amount (mucocoele, mycotic, polypous-purulent isolated sphenoiditis).

The basement membrane was of normal structure (in polypous-purulent and mycotic forms), in some cases it was thickened. The most marked thickening was observed in the case of the sphenchoanal polyp, lesser thickening was seen in the polypous sphenoiditis with a marked eosinophil infiltration, and minimal thickening, in the mucocoele.

The degree and nature of infiltration of the mucous membrane by various inflammatory cells is one of the main pathomorphological criteria of the forms of damage (phenotypes). First of all, the activity and severity of inflammatory infiltration were assessed. The most active inflammation in the proper plate (with signs of edema) were seen in the polypous form, while in other forms this sign was moderate (mycotic form) or minor (cystic form). Edema of the proper plate was most pronounced in the polypous form, minimal edema was observed in the sphenchoanal polyp and polypous-mycotic form, while it was absent in other forms. The obtained data are indirect confirmation that at the time of the interventions the process in the sinus was not in a phase of exacerbation (with conservative treatment or in latent forms).

We observed infiltration of the proper plate of the mucous membrane by the following types of cells: macrophages, leukocytes, lymphocytes, neutrophils, plasma cells, eosinophils, and fibrocytes.

In the cystic process, cellular infiltration is represented mainly by lymphocytes, single segmented leukocytes, and a small number of fibrocytic and fibroplastic cells. In mucocoele, there can be seen a prevalence of lymphocytes and plasmacytes, single segmented leukocytes, i.e. the picture is generally similar to that of a retention cyst. In the polypous process, there is observed superficial (diffusion, in some fields of vision), mixed-cell inflammatory infiltration with prevalence of eosinophils and lesser amount of plasmatic cells and lymphocytes. In the case of the solitary sphenchoanal polyp, the picture is different: there is a prevalence of lymphocytes and eosinophils with lesser amount of plasmacytes. In the polypous-purulent process, the lymphocyte type cells with some neutrophils and minor amounts of plasmacytes and histiocytes. The situation is similar in the polypous-mycotic process with lymphocytes accounting for over 90% of observed cells, the remaining amount consisting of neutrophils, plasmacytes, eosinophils

(below 1%), and macrophages (histiocytes).

The range of features characteristic exclusively of a particular morphology of the lesion, identified in our studies, is minimal. Thus, in the retention cyst, a small number of small thin-wall vessels was seen within the thickness of the proper plate, some of them demonstrating signs of plethora. In the superficial areas, individual minor accumulations of seromucous glands were identified. In the case of solitary sphenchoanal polyps, cystic structures were seen in the thickness of the proper plate lined with ciliated cylindrical epithelium filled with aplastic eosinophil mass. In polypous forms, there is a marked infiltration of the proper plate with eosinophils. In polypous forms of lesions, it is important to study the level of tissue eosinophilia that involves studying (counting) the eosinophils in the fields of vision under high magnification. Reliable eosinophils were considered to be segmented cells with a round or slightly polygonal shape, with granular brightly eosinophilic cytoplasm, and a bipartite basophilic nucleus. Probable eosinophils were considered to be cells with a round or slightly polygonal shape, with granular brightly eosinophilic cytoplasm, without obvious signs of segmentation of the nucleus. Non-nuclear structures with granular, brightly eosinophilic contents, as well as eosinophils in the lumen of blood vessels were not considered. The resulting number of eosinophils was from 100 to 3803 in 10 fields of vision with 400x magnification (40x lens and 10x eyepiece, 22 mm). In this case, fragments of the mucous membrane in places form small villous-like

structures. In inverted papilloma, endophytic nesting structures of multilayered flat nonkeratinizing epithelium with a clear border (inverted component) and foci of hemorrhage of an artificial nature are visible in the thickness of the stroma. In case of mucocoele, areas of fraying are found in the thickness of the proper plate. In the case of a polypous-purulent process, penetration of neutrophils between the cells of the respiratory epithelium was observed. When mycotic lesions were studied, in all cases inflammatory changes of the mucosa without fungal invasion were observed, and the fungi colonies were located in the lumen of the sinus as a fungal ball. The possible differential diagnostic series is as follows: *Aspergillus*, *Mucor*, *Pseudallescheria boydii*, *Fusarium*, other variants are less probable. Some researchers believe that some of the clinically diagnosed non-invasive fungal forms of isolated sphenoiditis occur as a chronic invasive process [16, 17]. Our study does not prove this proposal. All fungal forms were not accompanied by signs of mucosal invasion during pathomorphological examination.

The pathomorphological landscape of sphenoid sinus lesions obtained in our study generally corresponds to the picture of lesions in other groups of paranasal sinuses.

During cadaveric examination of the state of the sphenoid sinus, direct visualization of the anastomosis through the open sinus was possible in 6 (60%) observations, in 4 (40%)

observations a pathological substrate was determined in the lumen of the sinus, of which 3 were polypous-altered mucosa and one was a large polyp. With transnasal probing along the Zuckerkandl line, it was possible to reach the sinus without hindrance in four cases.

CONCLUSIONS

Considering the overwhelming number of cases of acute and chronic rhinosinusitis, the absolute figures for the prevalence of isolated sphenoiditis, even with a relative value of 5% of the total, are also quite significant. Determination of phenotypes of isolated sphenoiditis is highly important for the development of a coherent treatment strategy, even more so with respect to many tactical and diagnostic errors.

When analyzing pathomorphological material, which is important both for understanding the mechanisms of development of the pathological process in a particular phenotype and for predicting the course of a chronic process, it is necessary to carefully document changes in the structure of the respiratory epithelium, including the ratio of cellular composition, changes in the basement membrane, inflammatory activity in the proper plate and its relative cellular composition.

To facilitate efficiency and ensure visualization of this analysis, we developed the "Checklist for the study of pathomorphological material in sphenoidal sinus pathology".

ADDITIONAL INFORMATION	ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ
Study funding. The study was the authors' initiative without external funding.	Источник финансирования. Работа выполнена по инициативе авторов без привлечения финансирования.
Conflict of interest. The authors declare that there are no obvious or potential conflicts of interest associated with the content of this article.	Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием настоящей статьи.
Contribution of individual authors. Larin R.A. – research design, editing of the article. Grishin A.S. – preparation of illustrative material. Mokeeva P.P. – writing of the text. All authors gave their final approval of the manuscript for submission, and agreed to be accountable for all aspects of the work, implying proper study and resolution of issues related to the accuracy or integrity of any part of the work.	Участие авторов. Ларин Р.А. – дизайн исследования, редактирование статьи. Гришин А.С. – подготовка иллюстративного материала. Мокеева П.П. – написание текста. Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.

REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА

- Kokorina OV, Golovanov AE, Kozadaev YuYu. Chronic sphenoiditis and the peculiarities of pneumatization of the sphenoidal sinus. *Russian Rhinology*. 2017;25(4):37-39. [Кокорина О.В., Голованов А.Е., Козадаев Ю.Ю. Хронический сфеноидит и особенности пневматизации клиновидной пазухи. *Российская ринология*. 2017;25(4):37-39]. DOI: <https://doi.org/10.17116/rosrino201725437-39>
- Karpishhenko S, Arustamyan I, Stancheva O, et al. Intraoperative sphenoid sinus volume measurement as an alternative technique to intraoperative computer tomography. *Diagnostics*. 2020;10(6):350. DOI: <https://doi.org/10.3390/diagnostics10060350>

- Moss WJ, Finegersh A, Jafari A, et al. Isolated sphenoid sinus opacifications: a systematic review and meta-analysis. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2017;7(12):1201-1206.

DOI: <https://doi.org/10.1002/alr.22023>

- Ikromov MK, Nazirnadova MB. Approach of transnasal endoscopic treatment of isolated sphenoiditis. *Avicenna bulletin*. 2017;19(3):354-358. [Икромов М.К., Назирмадова М.Б. Тактика трансназального эндоскопического лечения изолированного сфеноидита. *Вестник Авиценны*. 2017;19(3):354-358].

DOI: <https://doi.org/10.25005/2074-0581-2017-19-3-354-357>

5. Chao CC, Lin YT, Lin CF, et al. The clinical features of endoscopic treated isolated sphenoid sinus diseases. *J Formos Med Assoc.* 2020;8:30-55.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2020.11.005>
6. Clement WA, Sooby P, Doherty C, et al. Acute isolated sphenoid sinusitis in children: A case series and systematic review of the literature. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2021;140:11.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2020.110492>
7. Larin RA, Shakhov AV, Krasilnikova SV, et al. Isolated lesions of the sphenoid sinus: features of diagnosis and treatment. *Science and Innovations in Medicine.* 2020;5(1):17-22. [Ларин Р.А., Шахов А.В., Красильникова С.В., и др. Изолированные поражения клиновидной пазухи: особенности диагностики и лечения. *Наука и инновации в медицине.* 2020;5(1):17-22].
DOI: <https://doi.org/10.35693/2500-1388-2020-5-1-17-22>
8. Anyutin RG, Kulikov LS, Nersesyan MV. Morphological features of the mucous membrane of the sphenoid sinus in patients with sphenoiditis. *Russian Rhinology.* 2005;4:21-22. (In Russ.). [Анютин Р.Г., Куликов Л.С., Нерсисян М.В. Морфологические особенности слизистой оболочки клиновидной пазухи у больных сфеноидитом. *Российская ринология.* 2005;4:21-22].
9. Piskunov SZ, Piskunov IS, Ludin AM. *Isolated lesion of the sphenoid sinus.* Kursk, 2004. (In Russ.). [Пискунов С.З., Пискунов И.С., Лудин А.М. *Изолированное поражение клиновидной пазухи.* Курск, 2004].
10. Fokkens WJ, Lund VJ, Hopkins C. European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps. *Rhinology.* 2020;58(29):1-464.
DOI: <https://doi.org/10.1055/b-0034-97635>
11. Larin RA, Krasilnikova SV, Mokeeva PP. Clinical and diagnostic features in the phenotyping of isolated sphenoiditis. *Russian Bulletin of Otorhinolaryngology.* 2022;87(3):92-98. [Ларин Р.А., Красильникова С.В., Мокеева П.П. Клинико-диагностические особенности при фенотипировании изолированного сфеноидита. *Вестник оториноларингологии.* 2022;87(3):92-98].
DOI: <https://doi.org/10.17116/otorino20228703192>
12. Villemure-Poliquin N, Nadeau S. Surgical treatment of isolated sphenoid sinusitis - A case series and review of literature. *Int J Surg Case Rep.* 2021;79(1):18-23.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijscr.2020.12.091>
13. Fadda GL, D'Eramo A, Grosso A, et al. Isolated Sphenoid Sinus Inflammatory Disease-A Report of 14 Cases. *Iran J Otorhinolaryngol.* 2020;32(109):101-107.
DOI: <https://doi.org/10.22038/ijorl.2019.39416.2304>
14. Piskunov GZ, Piskunov SZ. *Clinical rhinology.* М., 2017 (In Russ.). [Пискунов Г.З., Пискунов С.З. *Клиническая ринология.* М., 2017].
15. Karpishchenko S, Voloshina A, Stancheva O, et al. Acute isolated sphenoiditis: tactics and treatment. *The Doctor.* 2019;30(4):49-53. [Карпищенко С., Волошина А., Станчева О., и др. Острый изолированный сфеноидит: тактика и лечение. *Врач.* 2019;30(4):49-53].
DOI: <https://doi.org/10.29296/25877305-2019-04-08>
16. Chung HJ, Lee H, Oh J, Chang JH. Isolated Fungal Sphenoid Sinusitis After Endonasal Transsphenoidal Approach. *Ear Nose Throat J.* 2022;101(6):238-239.
DOI: <https://doi.org/10.1177/0145561320961205>
17. Kochetkov PA, Ordyan AB, Lunicheva AA. To the question of the isolated noninvasive fungal sphenoiditis pathogenesis. *Medical Council.* 2018;(8):52-57. [Кочетков П.А., Ордян А.Б., Луничева А.А. К вопросу о патогенезе изолированного неинвазивного грибкового сфеноидита. *Медицинский Совет.* 2018;(8):52-57].
DOI: <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2018-8-52-57>

Результаты сухожильных трансферов для стабилизации суставов запястья у пациентов с ревматоидным артритом

А.В. Розов¹, А.М. Ли́ла^{1, 2}, Е.И. Бялик¹, Е.А. Нарышкин¹, С.В. Маглеваний¹, А.И. Горелова¹

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии имени В.А. Насоновой»
(Москва, Российская Федерация)

²ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (Москва, Российская Федерация)

Аннотация

Цель – сравнить результатов выполнения мягкотканых стабилизирующих операций по транспозиции сухожилий длинного лучевого и локтевого разгибателей запястья (транспозиция ECU+ECRL) с их последующим тенodesом. 45 пациентам (контрольная группа) выполнялся артродез лучезапястного сустава. Для оценки функционального статуса до и после операции использовался опросник DASH. Для оценки качества жизни – индекс EQ-5D, для оценки боли – ВАШ, активность заболевания оценивалась по индексу DAS28. Средний период наблюдения за пациентами после операции составил 6 месяцев.

Материал и методы. В исследование вошли 69 пациентов. 24 пациентам (основная группа) выполнялась транспозиция длинного лучевого и локтевого разгибателей запястья (транспозиция ECU+ECRL) с их последующим тенodesом. 45 пациентам (контрольная группа) выполнялся артродез лучезапястного сустава. Для оценки функционального статуса до и после операции использовался опросник DASH. Для оценки качества жизни – индекс EQ-5D, для оценки боли – ВАШ, активность заболевания оценивалась по индексу DAS28. Средний период наблюдения за пациентами после операции составил 6 месяцев.

Результаты. Функциональный статус пациентов после операции, оцениваемый по шкале DASH, был достоверно лучше в основной группе пациентов ($39,41 \pm 10,17$) по сравнению с контрольной группой ($46,4 \pm 15,8$), $p < 0,05$. В обеих группах отмечалась положительная динамика боли по

ВАШ, а также улучшение качества жизни. В группе пациентов с транспозицией ECU+ECRL, проводимой на стадиях поражения запястья Larsen II-III ст. функциональный статус кисти по DASH после операции был значительно лучше по сравнению с пациентами, которым транспозиция сухожилий проводилась на стадиях поражения запястья IV-V ст., их медиана составила 38 и 48 баллов соответственно.

Выводы. Сухожильные транспозиции ECU+ECRL являются эффективным методом стабилизации суставов запястья и коррекции деформаций кисти, однако имеют ряд ограничений, самым главным из которых является степень поражения суставов запястья и выраженность деформаций. Эффективность мягкотканых методик значительно снижается при выполнении оперативных вмешательств при IV и V стадиях поражения кисти по Larsen.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, ревматоидная кисть, хирургия кисти, ревмоортопедия.

Конфликт интересов: не заявлен.

Для цитирования:

Розов А.В., Ли́ла А.М., Бялик Е.И., Нарышкин Е.А., Маглеваний С.В., Горелова А.И. Результаты сухожильных трансферов для стабилизации суставов запястья у пациентов с ревматоидным артритом. Наука и инновации в медицине. 2024;9(4):311-316.
DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM633628>

Сведения об авторах

Розов А.В. – аспирант, врач травматолог-ортопед.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6439-1045>
E-mail: rozovvv@bk.ru

Ли́ла А.М. – член-корр. РАН, д-р мед. наук, профессор; директор.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6068-3080>
E-mail: too.niir@mail.ru

Бялик Е.И. – д-р мед. наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории ревмоортопедии и реабилитации, врач травматолог-ортопед.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7938-1536>
E-mail: sklifbialik@yandex.ru

Нарышкин Е.А. – младший научный сотрудник, врач травматолог-ортопед.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7628-9678>
E-mail: naryshkin.evheniy@gmail.com

Маглеваний С.В. – младший научный сотрудник, врач травматолог-ортопед.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8027-8624>

E-mail: dr.maglevanyy@gmail.com

Горелова А.И. – врач-ординатор, врач травматолог-ортопед.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-5068-3536>

E-mail: anst.fm@gmail.com

Автор для переписки

Розов Александр Валерьевич

Адрес: ФГБНУ НИИ ревматологии им. В.А. Насоновой,
Каширское шоссе, 34а, г. Москва, Россия, 115522.

E-mail: rozovvv@bk.ru

Список сокращений

РА – ревматоидный артрит; ECU – extensor carpi ulnaris – локтевой разгибатель запястья; ECRL – extensor carpi radialis longus – длинный лучевой разгибатель запястья; ВАШ – визуальная оценочная шкала; БПВП – базисный противовоспалительный препарат; КЖ – качество жизни.

Получено: 20.06.2024

Одобрено: 09.09.2024

Опубликовано: 23.10.2024

Results of tendon transfers for stabilization of wrist joints for patients with rheumatoid arthritis

Aleksandr V. Rozov¹, Aleksandr M. Lila^{1, 2}, Evgenii I. Byalik¹, Evgenii A. Naryshkin¹,
Sergei V. Maglevanyy¹, Anastasiya I. Gorelova¹

¹V.A. Nasonova Institute of Rheumatology (Moscow, Russian Federation)

²Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (Moscow, Russian Federation)

Abstract

Aim – to compare the results of soft tissue stabilization operations for transposition of the tendons of the long radial and ulnar extensors of the wrist and arthrodesis of the wrist joint in patients with rheumatoid arthritis.

Material and methods. The study included 69 patients. Twenty-four patients (the main group) underwent transposition of the long radial and ulnar extensors of the wrist (ECU+ECRL transposition) with their subsequent tenodesis. Forty-five patients (the control group) underwent arthrodesis of the wrist joint. The DASH questionnaire was used to assess the functional status before and after surgery. The EQ-5D index was used to assess the quality of life, visual assessment scale (VAS) was used to assess pain, and disease activity was assessed using the DAS28 index. The average follow-up period for patients after surgery was 6 months.

Results. The functional status of patients after surgery, assessed by the DASH scale, was significantly better in the main group of patients (39.41 ± 10.17) compared to the control group (46.4 ± 15.8), $p < 0.05$. Both groups showed

positive dynamics of pain according to the VAS, as well as an improvement in the quality of life. In the group of patients with ECU+ECRL transposition, carried out at stages II-III of Larsen's wrist damage, the functional status of the hand according to DASH after surgery was significantly better compared to patients who underwent tendon transposition at stages IV-V of wrist damage, their median being 38 and 48 points, respectively. Conclusions. ECU+ECRL tendon transpositions are an effective method for stabilizing the wrist joints and correcting hand deformities, but they have a number of limitations, the most important of which is the degree of damage to the wrist joints and the severity of the deformities. The effectiveness of soft tissue techniques is significantly reduced when performing surgical interventions at stages IV and V of hand damage according to Larsen.

Keywords: rheumatoid arthritis, rheumatoid hand, hand surgery, rheumoorthopedics.

Conflict of interest: nothing to disclose.

Citation

Rozov AV, Lila AM, Byalik EI, Naryshkin EA, Maglevanyi SV, Gorelova AI. **Results of tendon transfers for stabilization of wrist joints for patients with rheumatoid arthritis.** *Science and Innovations in Medicine.* 2024;9(4):311-316.
DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM633628>

Information about authors

Aleksandr V. Rozov – postgraduate student, traumatologist-orthopedist.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6439-1045>
E-mail: rozovvv@bk.ru

Aleksandr M. Lila – Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, MD, PhD, Professor; Director.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6068-3080>
E-mail: too.niir@mail.ru

Evgenii I. Byalik – MD, PhD, Professor, leading researcher of the laboratory of rheumatoid orthopedics and rehabilitation, traumatologist-orthopedist.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7938-1536>
E-mail: sklifbialik@yandex.ru

Evgenii A. Naryshkin – junior researcher, traumatologist-orthopedist.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7622-9678>

E-mail: naryshkin.evheniy@gmail.com

Sergei V. Maglevanyi – junior researcher, traumatologist-orthopedist.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8027-8624>

E-mail: dr.maglevanyy@gmail.com

Anastasiya I. Gorelova – resident physician, traumatologist-orthopedist.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-5068-3536>

E-mail: anst.fm@gmail.com

Corresponding Author

Aleksandr V. Rozov

Address: Research Institute of Rheumatology named after V.A. Nasonova, 34a Kashirskoe highway, Moscow, Russia, 115522.

E-mail: rozovvv@bk.ru

Received: 20.06.2024

Accepted: 09.09.2024

Published: 23.10.2024

ВВЕДЕНИЕ

Важная функциональная роль кисти и большой процент молодых пациентов с поражением кисти на фоне ревматоидного артрита (РА) ставят перед ревмоортопедами непростую задачу – стабилизировать суставы кисти максимально щадящим образом и при этом частично сохранить ее функцию.

Актуальность проблемы сложно переоценить. Так, по данным Американской ассоциации ортопедов, РА и связанное с ним поражение кисти – одна из наиболее частых причин инвалидизации пациентов [1]. Кисть и запястье являются теми областями, которые чаще всего поражаются при РА [2]. РА, как правило, дебютирует с поражения пястно-фаланговых, проксимальных межфаланговых, лучезапястного суставов и суставов запястья [3].

Типичными жалобами пациентов являются отек и боль в области мелких суставов кисти, нарушение двигательной функции [3, 4]. Повреждение запястья и лучезапястного сустава в большинстве случаев протекает по характерному сценарию, хорошо описанному М. Merle и соавт.: на фоне синовита лучезапястного сустава происходит растяжение капсульно-связочного аппарата дистального лучелоктевого сочленения с последующим подвывихом головки локтевой кости. Результатом этого является вывих локтевого разгибателя запястья в ладонную сторону, который начинает работать как сгибатель запястья. Лучевые разгибатели запястья, «потеряв» антагониста в виде локтевого разгибателя, отклоняют кисть в лучевую сторону, вследствие чего развивается подвывих разгибателей пальцев кисти в локтевую сторону и кисть приобретает характерную форму [5].

Очевидно, что «пусковым» моментом в патогенезе повреждения кисти является поражение запястья и вывих локтевого разгибателя запястья с развитием

сухожильно-мышечного дисбаланса [6]. Результатом такой деформации является выраженное нарушение функции кисти, которое может быть скорректировано лишь хирургическим путем.

Наиболее часто выполняемой операцией на протяжении последних десятилетий при поражениях запястья у пациентов с РА является артродез лучезапястного сустава, который имеет ряд существенных недостатков, наиболее значимым из которых является отсутствие движений в артродезированном суставе [7]. Последние годы все большее распространение получают стабилизирующие операции на суставах запястья, позволяющие в той или иной степени сохранить сгибание/разгибание [8, 9]. Они могут применяться на ранних стадиях заболевания и способствуют профилактике развития выраженных деформаций [10].

В настоящее время наиболее эффективными хирургическими методами предотвращения развития тяжелых деформаций являются сухожильные трансферы [11]. В травматолого-ортопедическом отделении ФГБНУ НИИР имени В.А. Насоновой нами выполняются мягкотканые стабилизирующие суставосберегающие операции в объеме тенотомии сухожилий длинного лучевого разгибателя запястья и локтевого разгибателя запястья (транспозиция ECU+ECRL – extensor carpi ulnaris и extensor carpi radialis longus) с целью стабилизации запястья и выведения проксимального ряда запястья из ладонного подвывиха. На предложенную хирургическую методику получена заявка на патент.

ЦЕЛЬ

Сравнение результатов мягкотканых стабилизирующих операции по транспозиции ECU+ECRL и артродеза лучезапястного сустава у пациентов РА.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование вошли 69 пациентов, наблюдавшихся в ФГБНУ НИИР имени В.А. Насоновой с достоверным диагнозом РА с поражением кисти и лучезапястного сустава, которым было рекомендовано оперативное лечение кисти при наличии двух или более критериев:

- деформации дистальных отделов кисти: ульнарная девиация пальцев, радиальная девиация карпально-метакарпального блока, деформации пальцев по типу «шея лебедя» или «бутоньерка»;
- функциональный статус кисти по DASH ≥ 50 баллов;
- визуальная оценочная шкала (ВАШ) боли ≥ 4 см.

Для стабилизации суставов запястья 24 пациентам (основная группа) была выполнена мягкотканная операция в объеме транспозиции ECU и ECRL с последующим тенodesом длинного лучевого разгибателя запястья и локтевого разгибателя запястья.

Суть методики заключается в выведении сухожилия локтевого разгибателя из ладонного подвывиха с его фиксацией к длинному лучевому разгибателю, что увеличивает тягу сухожилий разгибателей в тыльную сторону и тем самым выводит проксимальный ряд запястья из ладонного подвывиха, а также создает эффект ортезирования запястья, увеличивая его стабильность. В результате восстанавливается высота запястья в сагиттальной плоскости и устраняется мышечно-сухожильный дисбаланс со стороны разгибателей, что прерывает патогенетическую цепочку развития деформаций дистальных отделов кисти.

Контрольную группу составили 45 больных, которым выполнялся артродез лучезапястного сустава. Обе группы были сравнимы по исходному функциональному статусу, полу, возрасту, длительности заболевания и получаемой терапии (таблица 1).

В послеоперационном периоде всем пациентам проводится иммобилизация лучезапястного сустава жестким ортезом без ограничения подвижности в пальцах кисти в течение 4 недель.

Все пациенты были серопозитивными по ревматоидному фактору, большую часть составили женщины – 94,2% в среднем возрасте $44,9 \pm 14,46$ года с длительностью заболевания от 4 до 8 лет.

Показатели	Транспозиция ECU+ECRL (n=24), основная группа		Артродез (n=45), группа контроля		p
	N	%	N	%	
Пол мужской Пол женский	2 22	8,33 91,67	2 43	4,44 95,56	0,517
Возраст (M $\pm$ SD)	47,16 $\pm$ 6,5	-	43,62 $\pm$ 13,18	-	0,488
Длительность заболевания (M $\pm$ SD)	5,01 $\pm$ 1,07	-	6,08 $\pm$ 2,63	-	0,374
Активность заболевания (DAS28): ремиссия низкая умеренная высокая	0 9 14 1	- 37,5 58,3 4,2	0 11 29 5	- 24,4 64,4 11,1	0,274 0,652 0,513
МПКТ нормальная остеопения остеопороз	11 9 4	45,8 37,5 16,67	26 12 7	57,7 26,6 15,5	0,371 0,503 0,544
Rg стадия поражения суставов запястья (по Larsen): I II III IV V	0 3 9 11 1	- 12,5 37,5 45,8 4,1	0 3 13 18 11	- 6,6 28,8 40,0 24,4	- 0,908 0,563 0,749 <0.05

Таблица 1. Клиническая характеристика больных РА

Table 1. Clinical characteristics of patients with rheumatoid arthritis

Рентгенологическая стадия поражения запястья определялась по классификации Larsen 1977 г. [12], которая в зависимости от степени сужения суставных щелей и выраженности костной деструкции включает пять стадий поражения суставов запястья. Согласно классификации Larsen, пациенты распределились следующим образом: у 8,7% была II стадия поражения суставов запястья, у 31,9% – III стадия, у 42,0% – IV стадия, у 17,4% – V стадия (рисунки 1–3).

Также перед операцией учитывались имеющиеся деформации кисти: радиальная девиация карпально-метакарпального блока наблюдалась у 14,3% больных, ульнарная девиация пальцев – у 10,7%, подвывихи/вывихи пястно-фаланговых суставов имели 78,5% пациентов.

Для оценки функции лучезапястного сустава нами использовался опросник DASH [13]. Опросник включает 38 вопросов о функциональном статусе в бытовой и



Рисунок 1. Рентгенологическая картина начальных стадий поражения суставов запястья и деформаций кисти.

Figure 1. X-ray pattern of early stages of wrist deformities.

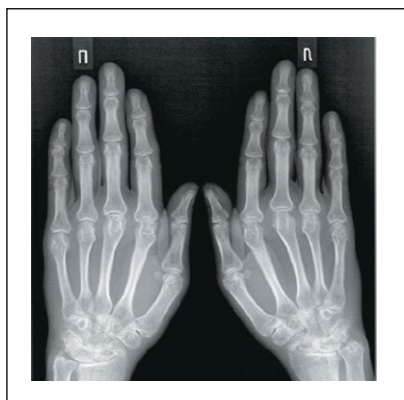


Рисунок 2. Рентгенологическая картина поражения суставов запястья умеренной выраженности (Larsen 3-4 ст.).

Figure 2. X-ray pattern of moderate stages of wrist deformities (Larsen III-IV stages).



Рисунок 3. Рентгенологическая картина тяжелого поражения суставов кисти с полным лизисом костей запястья.

Figure 3. X-ray pattern of severe stages of wrist deformities (Larsen V stage) with complete carpal bones osteolysis.

Показатели (M±SD)	Транспозиция ECU+ECRL (n=24) основная группа		Артродез (n=45) группа контроля		p*
	До операции	После операции	До операции	После операции	
DASH (баллы), (M±SD)	64,94±8,09	39,41±10,17	65,04±9,42	46,4±15,8	<0,05
ВАШ боли (см)	4,95±1,39	2,41±1,58	5,11±1,44	2,77±1,67	0,45
Сгибание (градусы)	37,29±11,79	18,54±11,56	26,11±11,79	0	<0,05
Разгибание (градусы)	22,91±9,43	9,58 ±7,21	15,55±8,80	0	<0,05
Общая амплитуда ротации (градусы)	164,16±26,36	149,6±35,32	134,2±32,27	131,89±38,21	<0,05
EQ-5D индекс	0,13±0,11	0,59±0,12	0,15±0,06	0,60±0,13	0,571

Таблица 2. Динамика боли и функциональных показателей кисти после операций

Table 2. Pain and functional outcomes trends

профессиональной деятельности. Результат высчитывается по формуле:

$$\left(\frac{\text{сумма } n \text{ ответов}}{n} \times 25 \right) - 1$$

Максимальный балл соответствует 100. При этом чем выше балл, тем хуже функциональное состояние кисти.

Средний показатель функционального статуса лучезапястного сустава, оцениваемый по шкале DASH, к моменту операции составлял от 56 до 74 баллов, что соответствовало неудовлетворительному состоянию функционального статуса пациентов.

Боль оценивалась по ВАШ [14] и составила в среднем 5,0±0,6 см. Объем движений в суставах кисти оценивался с помощью ручного угломера. Средний объем сгибания до операции в группе пациентов, которым выполнялся артродез, составил 26,25°, разгибания 15,45°, общая амплитуда ротации составила 134,2°. В группе пациентов с использованием мягкотканых методик сгибание составило 37,36°, разгибание 22,9° и объем ротационных движений – 164,2°. По указанным параметрам группы были сопоставимы.

Активность РА оценивалась по индексу DAS 28 [15]: большинство больных имели умеренную или низкую степень активности заболевания (66,7% и 24,6% соответственно), 6 пациентов (8,7%) были прооперированы на высокой степени активности. По данным денситометрии у 30,4% выявлена остеопения и у 15,9% остеопороз.

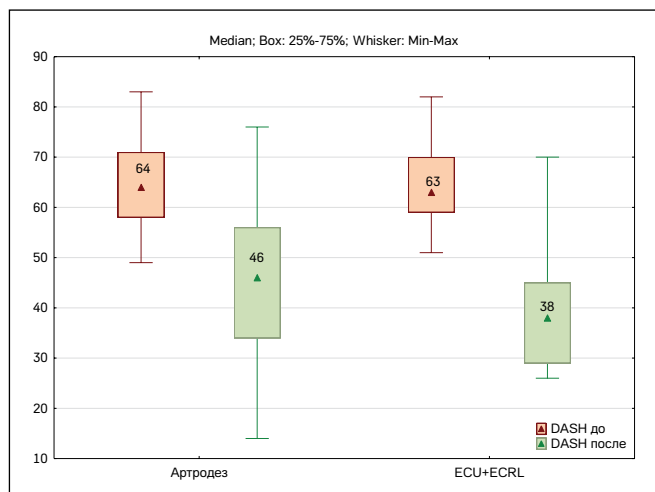


Рисунок 4. Динамика функционального статуса по шкале DASH до и после операций в группах артродеза и трансфера ECU+ECRL.

Figure 4. Functional level according to DASH before and after surgery in both groups: arthrodesis and ECU+ECRL transfer.

Перед проведением операции все пациенты получали антиревматическую терапию: нестероидные противовоспалительные препараты 94,2%; базисные противовоспалительные препараты (БПВП): метотрексат – 40 пациентов (57,97%); лефлуномид – 15 (21,73%); сульфасалазин – 10 (14,49%); плаквенил – 10 пациентов (14,49%). 39 пациентов (59,52%) получали глюкокортикоиды в средней дозировке 5 мг/сут. в пересчете на преднизолон. В периоперационном периоде БПВП не отменялись. 11 пациентов (15,94%) нуждались в применении генно-инженерных биологических препаратов, одно введение которых перед операцией было отменено.

Для оценки качества жизни (КЖ) применялся опросник EQ-5D [16]. КЖ пациентов перед выполнением транспозиции ECU+ECRL не отличалось от пациентов с артродезом (индекс EQ-5D 0,128 и 0,151 соответственно, p>0,05).

Статистическая обработка данных была проведена с помощью программы Statistica версия 12.0 с использованием общепринятых методов параметрического и непараметрического анализа. Данные представлены в виде средних значений и стандартного отклонения (M±SD), медианы (Me) с интерквартильным размахом [25-й;75-й перцентили].

РЕЗУЛЬТАТЫ

В шестимесячный период наблюдения после оперативного вмешательства среднее значение функции лучезапястного сустава оценивали по шкале DASH. В основной группе оно составило 39,41±10,17 (медиана 38), для пациентов после выполнения артродеза – 46,4±15,8 (медиана 46) (таблица 2).

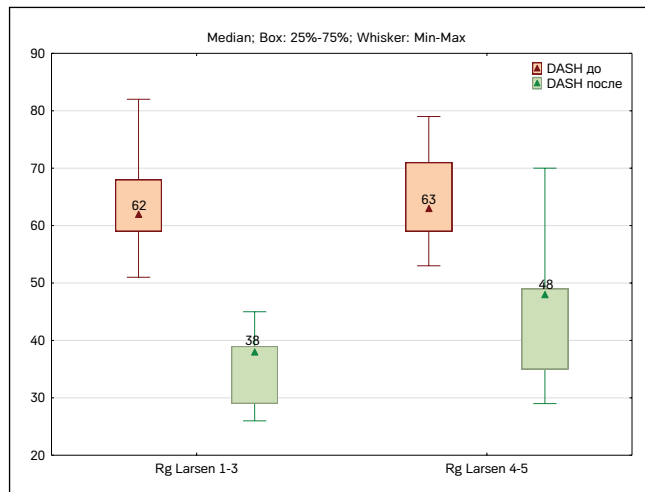


Рисунок 5. Динамика функционального статуса по шкале DASH до и после операций в группах Larsen II-III cm. и Larsen IV-V cm.

Figure 5. Functional level trends according to DASH before and after surgery in groups: Larsen II-III and Larsen IV-V stages.

Показатели (M±SD)	Транспозиция ECU+ECRL (n=24) после операции		P*
	Larsen II-III ст.	Larsen IV-V ст.	
DASH (баллы), (Ме)	38,0 [29,0; 39,0]	48,0 [35,0; 49,0]	<0,05
ВАШ боли (см)	2,15±1,14	2,75±2,0	0,451
Сгибание (градусы)	21,80±9,80	15,76±12,56	0,373
Разгибание (градусы)	10,45±7,89	8,9±6,81	0,289
Общая амплитуда ротации (градусы)	156,15±28,7	141,0±41,9	0,207
EQ-5D индекс	0,588±0,102	0,595±0,109	0,871

Таблица 3. Послеоперационные результаты транспозиции ECU+ECRL у больных РА в зависимости от стадии поражения суставов запястья по Larsen

Table 3. Postoperative results of ECU+ECRL transfers depending on the X-ray stage of the wrist lesion

В группе мягкотканых методик отмечалась лучшая динамика боли по ВАШ в сравнении с таковой в группе артродезов (**рисунок 4**).

В группе пациентов с транспозицией сухожилий послеоперационный объем движений оказался значительно выше по сравнению с группой артродезов: среднее значение сгибания составило $18,54 \pm 11,56^\circ$ и 0° , разгибания $9,58 \pm 7,21^\circ$ и 0° , объем ротационных движений $149,6 \pm 35,32^\circ$ и $134,2 \pm 32,27^\circ$ соответственно. Функциональный статус пациентов (DASH) после применения суставосберегающей мягкотканной методики стабилизации суставов запястья был значительно лучше по сравнению с пациентами после выполнения артродеза запястья $39,41 \pm 10,17$ и $46,4 \pm 15,8$ балла ($p < 0,05$). КЖ больных в послеоперационном периоде не различалось.

При анализе пациентов с тяжелыми поражениями суставов запястья (IV и V стадии по Larsen), было выявлено, что среди больных, которым выполнялась транспозиция ECU+ECRL, функциональный результат в отдаленном послеоперационном периоде был достоверно хуже, чем при выполнении операции на более ранних стадиях поражения суставов запястья (Larsen II и III стадии), ($p < 0,05$) (**таблица 3, рисунок 5**).

Медиана шкалы функционального состояния кисти DASH в подгруппе пациентов с IV и V стадией после операции составила $48,0 [35,0; 49,0]$, тогда как в подгруппе пациентов со II и III стадиями показатели были лучше – $38,0 [29,0; 39,0]$. При этом при выполнении транспозиции

ECU+ECRL у больных в послеоперационном периоде не было выявлено различий по уровню послеоперационной боли, КЖ, функциям сгибания – разгибания и общей амплитуде ротации в зависимости от тяжести поражения суставов.

В то же время после выполнения артродеза в послеоперационном периоде у пациентов с IV-V стадиями поражения суставов по Larsen средний показатель DASH составил $46,0 \pm 15,91$.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на то что патобиомеханические причины развития деформаций кисти при ревматоидном артрите достаточно хорошо изучены и описаны, последнее время операцией выбора у пациентов с поражением кисти на фоне РА оставался артродез лучезапястного сустава. Однако стремление современной хирургии к переходу ко все более щадящим, органосохраняющим операциям привело к появлению прогрессивных хирургических методик в том числе и в ревмоортопедии. Одна из таких методик – сухожильный трансфер разгибателей запястья, направленный на стабилизацию суставов запястья.

По нашим данным, указанная методика показывает хорошие функциональные результаты, однако имеет ряд ограничений, главным из которых является степень поражения суставов запястья и выраженность их деформаций. Эффективность мягкотканых методик значительно снижается при выполнении оперативных вмешательств при IV-V стадиях поражения суставов кисти по Larsen.

Поэтому при тяжелом поражении суставов запястья вариантом выбора, по нашему мнению, остается артродез лучезапястного сустава, который дает лучшие функциональные результаты на поздних стадиях заболевания.

На удовлетворенность пациентов результатом операции влияют также предшествующие оперативному вмешательству деформации: ульнарная девиация карпально-метакарпального блока и радиальная девиация пальцев кисти. В связи с этим ревматологам и ортопедам-хирургам необходимо как можно раньше выявлять пациентов с начинающимися деформациями кисти на фоне РА с целью своевременного выполнения оперативного вмешательства и предотвращения развития тяжелых деформаций, плохо поддающихся хирургической коррекции в дальнейшем. ■

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ	ADDITIONAL INFORMATION
Этическая экспертиза. Авторы в письменной форме получили добровольное согласие пациентов на публикацию медицинских данных. Данная работа одобрена локальным этическим комитетом ФГБНУ НИИ ревматологии имени В.А. Насоновой (протокол заседания №24 от 01.12.2023).	Ethical review. The authors received voluntary written consent from patients to publish medical data. This work was approved by the local ethics committee of the V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology (Protocol No. 24 dated 01.12.2023).
Источник финансирования. Исследование проводилось без спонсорской поддержки	Study funding. This research received no external funding.
Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием настоящей статьи.	Conflict of interest. The authors declare that there are no obvious or potential conflicts of interest associated with the content of this article.

Участие авторов. Лиля А.М. – научный руководитель, редактор статьи. Бялик Е.И. – научный руководитель, редактор статьи, принимал участие в выполнении хирургических вмешательств по теме исследования. Розов А.В. – написание текста статьи, участие в выполнении хирургических вмешательств, сбор и анализ данных. Нарышкин Е.А., Маглеваний С.В., Горелова А.И. – участие в оперативных вмешательствах, ведение пациентов, помощь в сборе данных.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.

Contribution of individual authors. Lila A.M. – scientific supervisor, article editor. Byalik E.I. – scientific supervisor, article editor, participated in performing surgical interventions on the research topic. Rozov A.V. – writing of the article, participating in performing surgical interventions, collecting and analyzing data. Naryshkin E.A., Maglevanyi S.V., Gorelova A.I. – participating in surgical interventions, patient management, assisting in data collection.

All authors gave their final approval of the manuscript for submission, and agreed to be accountable for all aspects of the work, implying proper study and resolution of issues related to the accuracy or integrity of any part of the work.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Kaur S, White S, Bartold M. Periodontal Disease as a Risk Factor for Rheumatoid Arthritis: A Systematic Review. *JBIS Libr Syst Rev*. 2012;10(42):1-12. DOI: <https://doi.org/10.11124/jbisir-2012-288>
2. van der Woude D, van der Helm-van Mil AHM. Update on the epidemiology, risk factors, and disease outcomes of rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2018;32(2):174-187. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.berh.2018.10.005>
3. Lin YJ, Anzaghe M, Schülke S. Update on the Pathomechanism, Diagnosis, and Treatment Options for Rheumatoid Arthritis. *Cells*. 2020;9(4):880. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells9040880>
4. Lee YS, Kim HS, Kim YH, Jo YH, Lee BG, Lee CH. Long-term clinical outcome of tendon transfer and tendon graft for extensor tendon ruptures in rheumatoid hands. *BMC Musculoskelet Disord*. 2022;23(1):865. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12891-022-05815-7>
5. Merle M, Lim A. *Elective Hand Surgery – Rheumatological and Degenerative conditions*. 2007. DOI: https://doi.org/10.1142/9789814277884_0005
6. Osmonaliev IZh, Akhtyamov IF, Mikuseva GI. Surgical treatment of rheumatoid hand: search and decisions. *Practical medicine*. 2014;2(4):96-99. [Осмоналиев И.Ж., Ахтямов И.Ф., Микусева Г.И. Хирургическое лечение ревматоидной кисти: поиск и решения. *Практическая медицина*. 2014;2(4):96-99. DOI: <https://doi.org/10.22141/1608-1706.3.15.2014.81626>
7. Olyunin YuA, Smirnov AV. The rheumatoid hand (Part I). *Modern Rheumatology Journal*. 2009;3(4):16-21. [Олюнин Ю.А., Смирнов А.В. Ревматоидная кисть (часть I). *Современная ревматология*. 2009;3(4):16-21. DOI: <https://doi.org/10.14412/1996-7012-2009-568>
8. Berber O, Garagnani L, Gidwani S. Systematic Review of Total Wrist Arthroplasty and Arthrodesis in Wrist Arthritis. *J Wrist Surg*. 2018;7(5):424-440. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-0038-1646956>
9. Yano K, Kaneshiro Y, Tomita M, et al. Radiotriquetral arthrodesis for rheumatoid wrist with flexor tendon rupture: A case report. *J Orthop Surg (Hong Kong)*. 2019;27(3):2309499019886376. DOI: <https://doi.org/10.1177/2309499019886376>
10. Berger RA, Blair WF, Andrews JG. Resultant forces and angles of twist about the wrist after ECRL to ECU tendon transfer. *J Orthop Res*. 1988;6(3):443-451. DOI: <https://doi.org/10.1002/jor.1100060316>
11. Pavlov VP, Makarov SA, Makarov MA, et al. High-technology surgical methods in the comprehensive medical rehabilitation of patients with rheumatic diseases and joint pathology of the upper and lower extremities. *Modern Rheumatology Journal*. 2012;6(2):103-108. [Павлов В.П., Макаров С.А., Макаров М.А., и др. Высокотехнологичные хирургические методы в комплексном восстановительном лечении суставной патологии верхних и нижних конечностей у больных с ревматическими заболеваниями. *Современная ревматология*. 2012;6(2):103-108. DOI: <https://doi.org/10.14412/1996-7012-2012-736>
12. Belt EA, Kaarela K, Kauppi MJ, et al. Assessment of mutilans-like hand deformities in chronic inflammatory joint diseases. A radiographic study of 52 patients. *Ann Rheum Dis*. 1999;58(4):250-252. DOI: <https://doi.org/10.1136/ard.58.4.250>
13. Angst F, Schwyzer HK, Aeschlimann A, et al. Measures of adult shoulder function: Disabilities of the Arm, Shoulder, and Hand Questionnaire (DASH) and its short version (QuickDASH), Shoulder Pain and Disability Index (SPADI), American Shoulder and Elbow Surgeons (ASES) Society standardized shoulder assessment form, Constant (Murley) Score (CS), Simple Shoulder Test (SST), Oxford Shoulder Score (OSS), Shoulder Disability Questionnaire (SDQ), and Western Ontario Shoulder Instability Index (WOSI). *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2011;63(11):174-188. DOI: <https://doi.org/10.1002/acr.20630>
14. Hawker GA, Mian S, Kendzerska T, French M. Measures of adult pain: Visual Analog Scale for Pain (VAS Pain), Numeric Rating Scale for Pain (NRS Pain), McGill Pain Questionnaire (MPQ), Short-Form McGill Pain Questionnaire (SF-MPQ), Chronic Pain Grade Scale (CPGS), Short Form-36 Bodily Pain Scale (SF-36 BPS), and Measure of Intermittent and Constant Osteoarthritis Pain (ICOAP). *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2011;63(11):240-52. DOI: <https://doi.org/10.1002/acr.20543>
15. van Riel PL, Renskers L. The Disease Activity Score (DAS) and the Disease Activity Score using 28 joint counts (DAS28) in the management of rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 2016;34(5):40-44. PMID: [27762189](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27762189/)
16. Balestroni G, Bertolotti G. L'EuroQol-5D (EQ-5D): uno strumento per la misura della qualità della vita EuroQol-5D (EQ-5D): an instrument for measuring quality of life. *Monaldi Arch Chest Dis*. 2012;78(3):155-159. DOI: <https://doi.org/10.4081/monaldi.2012.121>

Влияние производного коричной кислоты на активность митохондриальных ферментов в мозговой ткани в условиях экспериментальной болезни Паркинсона

Д.И. Поздняков^{1, 2}

¹Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России (Пятигорск, Российская Федерация)

²Пятигорский государственный научно-исследовательский институт курортологии – филиал ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр медицинской реабилитации и курортологии ФМБА России» (Пятигорск, Российская Федерация)

Аннотация

Цель – оценить влияние производного коричной кислоты на изменение активности митохондриальных ферментов в ткани головного мозга крыс в условиях экспериментальной болезни Паркинсона.

Материал и методы. Болезнь Паркинсона моделировали у крыс самцов Wistar путем прямой инъекции раствора ротенона (5 мг/мл) в полосатое тело. Анализируемое соединение 4-гидрокси-3,5-ди-третбутил – коричную кислоту и препарат сравнения – этилметилгидроксипиридина сукцинат вводили перорально в эквивалентных дозах (100 мг/кг) на протяжении 30 дней с момента моделирования патологии. Далее методом дифференциального центрифугирования получали супернатант головного мозга, в котором оценивали изменение активности ферментов: цитратсинтазы, сукцинатдегидрогеназы, цитохром-с-оксидазы и аконитазы. Полученные результаты обрабатывали статистически. В ходе анализа использовался прикладной программный пакет StatPlus 7.0.

Результаты. В ходе исследования было установлено, что введение крысам 4-гидрокси-3,5-ди-третбутил коричной кислоты способствует повышению активности цитратсинтазы, сукцинатдегидрогеназы, цитохром-с-оксидазы и аконитазы в сравнении с нелечеными животными на 109,7%

($p<0,05$); 53,6% ($p<0,05$); 65,0% ($p<0,05$) и 63,1% ($p<0,05$) соответственно, тогда как на фоне применения препарата сравнения активность указанных ферментов увеличилась соответственно на 56,3% ($p<0,05$); 57,7% ($p<0,05$); 71,7% ($p<0,05$) и 49,1% ($p<0,05$). При этом активность цитратсинтазы у животных, получавших 4-гидрокси-3,5-ди-третбутил коричную кислоту, была выше аналогичной у крыс, которым вводили референт на 34,2% ($p<0,05$).

Выводы. Проведенное исследование показало, что курсовое введение 4-гидрокси-3,5-ди-третбутил коричной кислоты животным с экспериментальной болезнью Паркинсона сопровождается повышением активности митохондриальных ферментов, что может отражать существенное влияние данного соединения на процессы митохондриального биогенеза, митофагии и генерации митохондриальных активных форм кислорода.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, митохондриальная дисфункция, нейропротекция, нейропротекторы, этилметилгидроксипиридина сукцинат.

Конфликт интересов: не заявлен.

Для цитирования:

Поздняков Д.И. Влияние производного коричной кислоты на активность митохондриальных ферментов в мозговой ткани в условиях экспериментальной болезни Паркинсона. *Наука и инновации в медицине*. 2024;9(4):317-322.

DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM630264>

Сведения об авторе

Поздняков Д.И. – канд. фарм. наук, заведующий кафедрой фармакологии с курсом клинической фармакологии; ведущий научный сотрудник.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5595-8182>

E-mail: pozdnickow.dmitry@yandex.ru

Автор для переписки

Поздняков Дмитрий Игоревич

Адрес: Пятигорский медико-фармацевтический институт, пр. Калинина, 11, г. Пятигорск, Россия, 357532.

E-mail: pozdnickow.dmitry@yandex.ru

Список сокращений

БП – болезнь Паркинсона; СДГ – сукцинатдегидрогеназа; АС – аконитаза; ЦС – цитратсинтаза; СоХ – цитохром-с-оксидаза; АФК – активные формы кислорода; ЛО – ложнооперированные животные; НК – негативный контроль; ЭМГПС – этилметилгидроксипиридина сукцинат.

Рукопись получена: 12.04.2024

Рецензия получена: 01.10.2024

Решение о публикации принято: 23.10.2024

The effect of cinnamic acid derivative on the activity of mitochondrial enzymes in brain tissue under conditions of experimental Parkinson's disease

Dmitrii I. Pozdnyakov^{1, 2}

¹Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University (Pyatigorsk, Russian Federation)

²Pyatigorsk State Research Institute of Balneology (Pyatigorsk, Russian Federation)

Abstract

Aim – to evaluate the effect of cinnamic acid derivative on changes in mitochondrial enzymes activity in rats brain tissue under conditions of experimental Parkinson's disease.

Material and methods. Parkinson's disease was modeled in male Wistar rats by direct injection of rotenone solution (5 mg/ml) into the striatum. The analyzed compound 4-hydroxy-3,5-di-*t*-butyl cinnamic acid and the reference ethylmethylhydroxypyridine succinate were administered orally in equivalent doses (100 mg/kg) for 30 days from the moment of pathology modeling. Next, a brain supernatant was obtained by differential centrifugation, in which changes in the activity of enzymes: citrate synthase, succinate dehydrogenase, cytochrome c oxidase and aconitase were evaluated. The obtained results were processed statistically. During the analysis, the StatPlus 7.0 application software suite was used.

Results. During the study, it was found that the administration of 4-hydroxy-3,5-di-*t*-butyl cinnamic acid to rats increased the activity of citrate synthase, succinate dehydrogenase, cytochrome c oxidase and aconitase relative to

untreated animals by 109.7% ($p<0.05$); 53.6% ($p<0.05$); 65.0% ($p<0.05$) and 63.1% ($p<0.05$), respectively, whereas against the background of the use of the reference, the activity of these enzymes increased by 56.3% ($p<0.05$); 57.7% ($p<0.05$); 71.7% ($p<0.05$) and 49.1% ($p<0.05$), respectively. At the same time, the activity of citrate synthase in animals treated by 4-hydroxy-3,5-di-*t*-butyl cinnamic acid was higher than that in rats treated by the reference by 34.2% ($p<0.05$).

Conclusions. The study showed that the course administration of 4-hydroxy-3,5-di-*t*-butyl cinnamic acid to animals with experimental Parkinson's disease is accompanied by an increase in the activity of mitochondrial enzymes, which may reflect the significant effect of this compound on the processes of mitochondrial biogenesis, mitophagy and generation of mitochondrial reactive oxygen species.

Keywords: Parkinson's disease, mitochondrial dysfunction, neuroprotection, neuroprotectors, ethylmethylhydroxypyridine succinate.

Conflict of interest: nothing to disclose.

Citation

Pozdnyakov DI. The effect of cinnamic acid derivative on the activity of mitochondrial enzymes in brain tissue under conditions of experimental Parkinson's disease.

Science and Innovations in Medicine. 2024;9(4):317-322.

DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM630264>

Information about author

Dmitrii I. Pozdnyakov – PhD, Associate professor, Head of the Department of Pharmacology with a course in Clinical Pharmacology; leading researcher. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5595-8182>

E-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru

Corresponding Author

Dmitrii I. Pozdnyakov

Address: Pyatigorsk Medical-Pharmaceutical Institute, 11 Kalinina ave., Pyatigorsk, Russia, 357532.

E-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru

Received: 12.04.2024

Accepted: 01.10.2024

Published: 23.10.2024

ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Паркинсона (БП) – хроническое нейродегенеративное заболевание, как правило, ассоциированное с возрастом. Заболеваемость БП на настоящий момент составляет 1-2 на 1000 человек, но прогрессирует с возрастом и при наличии значительного количества факторов риска, например, генетической предрасположенности, курения, воздействия нейротоксинов [1]. Патогенетически БП характеризуется потерей дофаминергических нейронов черной субстанции с формированием патологических включений α -синуклеина – телец Леви. В то же время БП является заболеванием, имеющим комплексный патогенез, который объединяет несколько взаимосвязанных патофизиологических процессов, включая и митохондриальную дисфункцию. Будучи главными источниками активных форм кислорода (АФК), митохондрии клетки играют существенную роль в прогрессировании БП, при этом первичным триггером митохондриальных нарушений является дисфункция комплекса I митохондриальной дыхательной цепи [2]. Митохондриальный комплекс I – самый большой митохондриальный компартмент, состоящий из более чем 44 белков, 7 из которых кодируется митохондриальной ДНК. Основная функция данного комплекса заключается в перемещении электрона от НАДН к убихинону, а также в транслокации протонов между внутренней и наружной митохондриальными мембранами [3]. Учитывая значительный вклад комплекса I в транспорт электронов, неудивительно, что при дисфункции данной системы наблюдается повышенная генерация АФК, активация окислительного стресса, истощение резервов внутриклеточного АТФ и как результат – гибель клетки сразу по нескольким механизмам – апоптоза, посредством окислительной модификации или фероптоза [4]. В результате потеря дофаминергических структур компактной черной субстанции по описанным

выше реакциям приводит к появлению характерных симптомов БП: тремора, ригидности, брадикинезии, постуральной нестабильности [4]. Однако стоит отметить, что в условиях БП отмечается не только дисфункция митохондриального комплекса I, но и наблюдается нарушение активности некоторых митохондриальных ферментов, в частности цитратсинтазы. Важным моментом является то, что возникающая ферментативная дисфункция приводит к прогрессирующему уменьшению пула АТФ в клетке, в результате чего формируется патологический метаболический сдвиг с активацией внутреннего и внешнего апоптотического пути, еще больше усугубляющего нейродегенеративный процесс [5]. Попытки целенаправленной фармакологической коррекции дисфункции митохондриального комплекса I и общей митохондриальной функции при БП предпринимались практически сразу после того, как была установлена роль данного патофизиологического процесса в патогенезе БП. Первоначально на предмет способности восстанавливать митохондриальную функцию были протестированы классические противопаркинсонические препараты: леводопа и ее комбинации с карбидопой и разагилином [6]. В итоге было показано, что данные лекарственные средства в условиях БП не оказывают существенного влияния на активность митохондриального комплекса I и митохондриальную функцию в целом. В связи с этим актуальным представляется разработка лекарственных средств, принципиально отличающихся от уже имеющихся препаратов механизмом действия. Одним из таких возможных направлений создания новых средств для терапии БП может являться изучение средств нейропротекторного действия. Как правило, нейропротекция представляет собой целенаправленное терапевтическое вмешательство, сохраняющее жизнеспособность нейронов черной субстанции, а сами нейропротекторы являются гетерогенной группой препаратов. К их числу можно отнести антагонисты

NMDA-рецепторов глутаминовой кислоты, металлохелаторы, блокаторы кальциевых каналов, коэнзим Q10, креатин [7]. Ранее проведенные исследования показали, что потенциально эффективным нейропротекторным соединением является 4-гидрокси-3,5-ди-трет бутил коричная кислота (АТАСЛ), которая оказывает многофакторное действие на клетки головного мозга, включая подавление оксидативного стресса и повышение образования АТФ [8]. В связи с этим представляется актуальным изучение данного соединения на предмет возможной способности корректировать митохондриальную дисфункцию в условиях экспериментальной БП.

ЦЕЛЬ

В условиях экспериментальной БП оценить влияние соединения АТАСЛ на изменение активности митохондриальных ферментов в ткани головного мозга.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на 40 половозрелых крысах-самцах Wistar массой тела 210–230 г, полученных из питомника лабораторных животных «Рапполово» (Россия). На время исследования животные содержались в стандартных условиях вивария Пятигорского медико-фармацевтического института в полипропиленовых клетках по 5 особей. Полнорационный экструдированный корм и воду водопроводную животные получали *ad libitum*. Подстил (гранулированную фракцию) меняли не реже чем 1 раз в 3 дня. Условия содержания исключали стрессирование животных: температура окружающего воздуха $22 \pm 2^\circ\text{C}$, относительная влажность 55–65% при 12-часовом цикле день/ночь. Оперативные манипуляции выполнены под хлоралгидратной анестезией (интраперитонеальная инъекция хлоралгидрата (PanReas Applichem, Испания), 350 мг/кг). Эвтаназию животных осуществляли после анестезии и забора биоматериала путем цервикальной дислокации. Концепция работы была одобрена локальным этическим комитетом ПМФИ (протокол №8 от 07.07.2023), соответствовала положениям Директивы ЕС 2010/63 и принципам ARRIVE 2.0 [9].

Для моделирования БП крыс анестезировали, скальпировали теменную область и бором при периодическом охлаждении (0,9% раствор хлорида натрия) проделывали трепанационное отверстие, удаляли твердую мозговую оболочку. Согласно стереотаксическим координатам AP +0,4, ML -2,0 (от брегмы) и DV -3,3 (соответствуют полосатому телу) вводили 4 мкл раствора ротенона (Sigma-Aldrich, Германия) в конечной концентрации 5 мг/мл. Инъекцию осуществляли модифицированным шприцом Гамильтона (100 мкл) с канюлей и иглой G30. После инъекции игла оставалась в месте введения на протяжении 5 минут, после чего ее извлекали, ушивали рану. Шов обрабатывали 10% раствором повидон-йода («Бетадин», ЗАО ЭГИС, Россия). До пробуждения животных оставляли под согревающей лампой [10].

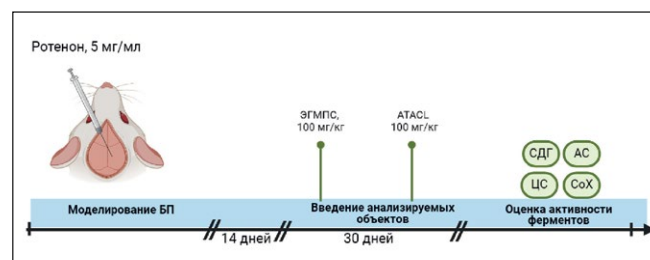
В ходе исследования были сформированы следующие экспериментальные группы (n=10 каждая группа): ЛО – ложнооперированные животные (к данной группе крыс применялись все последовательные процедуры, описанные при моделировании БП, за исключением введения ротенона); НК – негативный контроль (животные

с воспроизведенной БП, но не получавшие терапию); ЭМГПС – животные с воспроизведенной БП, получавшие препарат сравнения – этилметилгидроксипиридина сукцинат («Мексидол», НПК Фармасофт, РФ) в дозе 100 мг/кг; АТАСЛ – группа крыс с воспроизведенной БП, которой вводили анализируемое соединение 4-гидрокси-3,5-ди-третбутил коричную кислоту в дозе 100 мг/кг [8]. В качестве препарата сравнения был выбран ЭМГПС, поскольку данный лекарственный препарат находит свое применение в терапевтических схемах лечения БП [11], а также оказывает влияние на изменение митохондриальной функции [12].

Референт и анализируемое соединение вводили перорально, начиная с 14 дня после введения ротенона и на протяжении 30 дней (одно введение в сутки). Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

По истечении 30 дней животных под хлоралгидратной анестезией декапитировали, извлекали головной мозг и помещали на ледяную баню (температура не выше 40°C). Далее отделяли мозжечок, полушария гомогенизировали в буферном растворе, состоящем из 0,1% раствора бычьего сывороточного альбумина (Sigma-Aldrich, Германия) + 215 ммоль маннита (Sigma-Aldrich, Германия) + 1 ммоль этиленгликольтетраацетата натрия (Sigma-Aldrich, Германия) + 75 ммоль сахарозы (Sigma-Aldrich, Германия) + 20 ммоль 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновой кислоты (Sigma-Aldrich, Германия). Гомогенат центрифугировали в течение 2 минут при 1100g. Полученный супернатант повторно центрифугировали в градиенте перколлы (Sigma-Aldrich, Германия) в течение 10 минут при 18000g. Вторичный супернатант использовали для проведения анализа.

Активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) оценивали спектрофотометрически в реакции сукцинат-зависимого восстановления дихлорфенолиндофенола при добавлении в анализируемую среду ротенона при 600 нм. Среда реакции содержала 40 мкМ дихлорфенолиндофенола + 1 мМ KCN + 10 мкМ ротенона и 50 мкМ кофермента Q2. Реакцию инициировали добавлением 10 мМ сукцината. Активность фермента выражали в Ед/мг белка. Активность цитохром-с-оксидазы (CoX) также определяли спектрофотометрически в ходе реакции окисления цитохрома С (II) в присутствии KCN при 500 нм. Среда инкубации содержала цитохрома С (II) – 15 μM и додецилсульфат

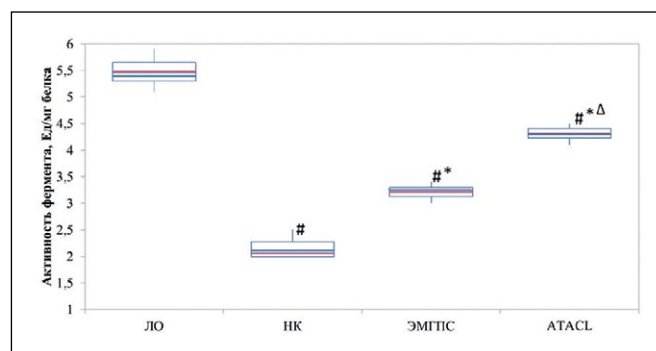


Примечания: БП – болезнь Паркинсона; СДГ – сукцинатдегидрогеназа; АК – аконитаз; ЦС – цитратсинтаза; CoX – цитохром-с-оксидаза. Авторское изображение выполнено с использованием ресурса <https://www.biorender.com>

Note: PD – Parkinson's disease; SDH – succinate dehydrogenase; AC – aconitase; CS – citrate synthase; CoX – cytochrome c oxidase. The author's image is made using the resource <https://www.biorender.com>

Рисунок 1. Дизайн исследования.

Figure 1. Design of the study.

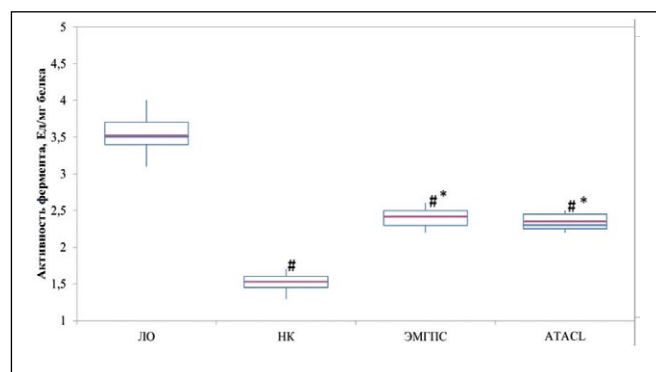


Примечания: на box plot синяя линия – медианное значение, красная линия – среднее значение; # – достоверно относительно ЛО (критерий Даннета, $p < 0,05$); * – достоверно относительно НК (критерий Ньюмена – Кейлса, $p < 0,05$); Δ – достоверно относительно животных, получавших ЭМГПС (критерий Ньюмена – Кейлса, $p < 0,05$).

Note: on the box plot, the blue line is the median value, the red line is the average value; # – significant to SO (Dunnet test, $p < 0,05$); * – significant to NC (Newman – Keulse test, $p < 0,05$); Δ – significant to animals treated by EMHPS (Newman – Keulse test, $p < 0,05$).

Рисунок 2. Влияние 4-гидрокси-3,5-ди-третбутил коричной кислоты и этилметилгидроксипиридина сукцината на изменение активности цитратсинтазы в ткани головного мозга у крыс с экспериментальной болезнью Паркинсона.

Figure 2. The effect of the 4-hydroxy-3,5-di-tertbutyl cinnamic acid and ethylmethylhydroxypyridine succinate on the change in citrate synthase activity in brain tissue in rats with experimental Parkinson's disease.



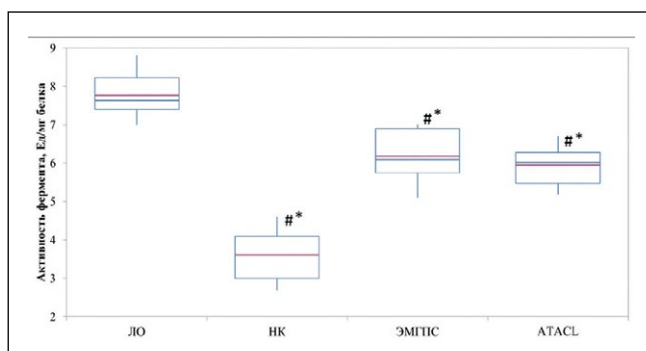
Примечания: на box plot синяя линия – медианное значение, красная линия – среднее значение; # – достоверно относительно ЛО (критерий Даннета, $p < 0,05$); * – достоверно относительно НК (критерий Ньюмена – Кейлса, $p < 0,05$).

Note: on the box plot, the blue line is the median value, the red line is the average value; # – significant to SO (Dunnet test, $p < 0,05$); * – significant to NC (Newman – Keulse test, $p < 0,05$).

Рисунок 3. Влияние 4-гидрокси-3,5-ди-третбутил коричной кислоты и этилметилгидроксипиридина сукцината на изменение активности сукцинатдегидрогеназы в ткани головного мозга у крыс с экспериментальной болезнью Паркинсона.

Figure 3. Effect of the 4-hydroxy-3,5-di-tertbutyl cinnamic acid and ethylmethylhydroxypyridine succinate on the change in succinate dehydrogenase activity in brain tissue in rats with experimental Parkinson's disease.

натрия 0,03% раствор. Активность фермента выражали в Ед/мг белка. Активность цитратсинтазы (ЦС) оценивали спектрофотометрическим методом, основанным на определении окрашенных продуктов реакции деградации 5,5'-ди-тиобис-(2-нитробензойной кислоты) в присутствии ацетил-КоА и оксалоацетата при 412 нм. Среда реакции содержала: 5,5'-дителиобис-(2-нитробензойную кислоту – 0,1 мМ, ацетил-КоА 50 мМ и оксалоацетат 50 мМ. Активность фермента выражали в Ед/мг белка. Активность аконитазы (АС) оценивали спектрофотометрически при 340 нм,

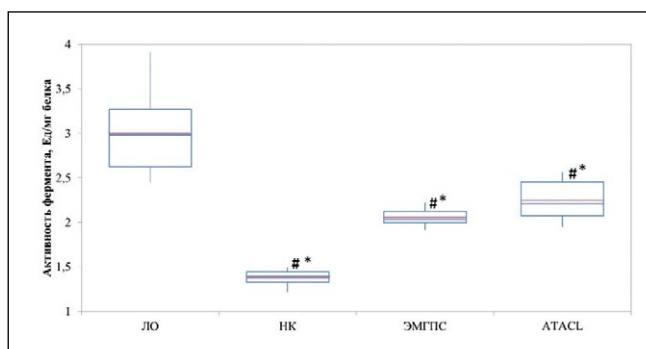


Примечания: на box plot синяя линия – медианное значение, красная линия – среднее значение; # – достоверно относительно ЛО (критерий Даннета, $p < 0,05$); * – достоверно относительно НК (критерий Ньюмена – Кейлса, $p < 0,05$).

Note: on the box plot, the blue line is the median value, the red line is the average value; # – significant to SO (Dunnet test, $p < 0,05$); * – significant to NC (Newman – Keulse test, $p < 0,05$).

Рисунок 4. Влияние 4-гидрокси-3,5-ди-третбутил коричной кислоты и этилметилгидроксипиридина сукцината на изменение активности цитохром-с-оксидазы в ткани головного мозга у крыс с экспериментальной болезнью Паркинсона.

Figure 4. Effect of the 4-hydroxy-3,5-di-tertbutyl cinnamic acid and ethylmethylhydroxypyridine succinate on changes in cytochrome c oxidase activity in brain tissue in rats with experimental Parkinson's disease.



Примечания: на box plot синяя линия – медианное значение, красная линия – среднее значение; # – достоверно относительно ЛО (критерий Даннета, $p < 0,05$); * – достоверно относительно НК (критерий Ньюмена – Кейлса, $p < 0,05$).

Note: on the box plot, the blue line is the median value, the red line is the average value; # – significant to SO (Dunnet test, $p < 0,05$); * – significant to NC (Newman – Keulse test, $p < 0,05$).

Рисунок 5. Влияние 4-гидрокси-3,5-ди-третбутил коричной кислоты и этилметилгидроксипиридина сукцината на изменение активности аконитазы в ткани головного мозга у крыс с экспериментальной болезнью Паркинсона.

Figure 5. The effect of the 4-hydroxy-3,5-di-tertbutyl cinnamic acid and ethylmethylhydroxypyridine succinate on the change in aconitase activity in brain tissue in rats with experimental Parkinson's disease.

в ходе сопряженной аконитаза-изоцитратдегидрогеназной реакции путем регистрации образовавшегося НАДФН [8].

Результаты обрабатывали методами вариационной статистики с применением возможностей программного комплекса StatPlus 7.0 (AnalystSoft Inc., США, лицензия 16887385). Полученные данные были проверены на нормальность распределения согласно критерию Шапиро – Уилка. Для сравнения групп средних применяли параметрические методы ANOVA с пост-тестом Ньюмена – Кейлса и непараметрические методы статического анализа – тест Краскела – Уоллиса с постпарным сравнением в тесте Данна. Сравнение с ЛО группой животных осуществляли с использованием критерия Даннета. Отличия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе анализа изменения активности ЦС (**рисунок 2**) было установлено, что у НК группы крыс по отношению к ЛО животным активность данного фермента уменьшилась на 62,3% ($p < 0,05$). В то же время применение ЭМГПС и АТАСЛ способствовало повышению активности ЦС относительно НК группы крыс на 56,3% ($p < 0,05$) и 109,7% ($p < 0,05$) соответственно. Стоит отметить, что у животных, получавших АТАСЛ, активность ЦС была на 34,2% ($p < 0,05$) выше, чем у крыс, которым вводили ЭМГПС.

Оценивая изменение активности СДГ (**рисунок 3**), отметим, что в группе нелеченых животных (НК) активность фермента снизилась на 56,6% ($p < 0,05$) в сравнении с аналогичным показателем ЛО крыс. На фоне введения животным ЭМГПС и АТАСЛ наблюдалось увеличение активности СДГ по отношению к НК группе крыс на 57,7% ($p < 0,05$) и 53,6% ($p < 0,05$) соответственно.

Аналогичная тенденция изменения была установлена при изучении изменения активности СоХ (**рисунок 4**). Так, у НК группы крыс в сравнении с ЛО животными активность СоХ уменьшилась на 53,6% ($p < 0,05$). В то же время при применении ЭМГПС и АТАСЛ активность фермента увеличилась относительно показателя НК группы крыс на 71,7% ($p < 0,05$) и 65,0% ($p < 0,05$) соответственно.

Активность АС (**рисунок 5**) у крыс НК группы была ниже таковой у ЛО животных на 54,1% ($p < 0,05$). На фоне введения крысам ЭМГПС активность АС увеличилась относительно НК группы животных на 49,1% ($p < 0,05$), тогда как при применении АТАСЛ активность фермента повысилась на 63,1% ($p < 0,05$). Стоит отметить, что статистически значимых отличий активности СДГ, СоХ и АС между группами животных, получавших ЭМГПС и АТАСЛ, не установлено.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что введение соединения АТАСЛ практически в равной степени с референтом – этилметилгидроксипириина сукцинатом способствует восстановлению активности митохондриальных ферментов: ЦС, АС, СоХ и СДГ. При этом отмечено, что у крыс, получавших АТАСЛ, активность ЦС была достоверно ($p < 0,05$) выше, чем у животных, получавших препарат сравнения. Полученные результаты могут свидетельствовать о многофакторном влиянии анализируемого соединения на изменение митохондриальной функции в ткани головного мозга крыс с БП. Известно, что митохондрии – главные энергетические станции клетки, структуры, находящиеся в постоянном динамическом равновесии, которое объединяет два взаимосвязанных процесса – митохондриальный биогенез и митофагию [13]. Определенный физиологический баланс данных реакций обеспечивает необходимый «контроль качества митохондрий» – преобладание функционально активных митохондрий над дефектными / дисфункциональными. В условиях БП помимо классического митохондриального дефекта, проявляющегося в виде дефицита активности комплекса I электрон-транспортной цепи митохондрий, наблюдается также нарушение процессов митофагии и биогенеза митохондрий [14].

Поскольку митохондриальный биогенез и митофагия – процессы, генетически детерминированные, изучение их с позиции биомаркерных изменений является трудоемкой задачей. Одним из наиболее общедоступных подходов к оценке изменения митохондриального биогенеза и митофагии, в том числе и при проведении фармакотерапии, является изучение активности ферментативных биомаркеров данных процессов. Так, об митохондриальном биогенезе можно судить по изменению активности СДГ и СоХ, а об интенсивности процесса митофагии свидетельствует активность ЦС [15].

Таким образом, наблюдаемые на фоне применения соединения АТАСЛ и референта изменения активности ЦС, СДГ и СоХ могут являться фактом, подтверждающим влияние данных объектов на митохондриальный биогенез и митофагию. Учитывая, что соединение АТАСЛ является производным гидроксикоричной кислоты – вещества, нативно встречающегося в некоторых растительных объектах, можно провести определенные параллели митохондриально-ориентированных свойств данного соединения и других природных соединений. Так, М. Ау и соавт. (2017) показали, что одним из механизмов, посредством которых кверцетин улучшает митохондриальную функцию, является усиление Parkin-зависимой митофагии, а также повышение скорости ресинтеза митохондриального белка [16]. Аналогичные результаты были продемонстрированы Т. Луо и соавт. (2023) для бергаптена – фуранокумарина, широко представленного в растительных объектах. В данном исследовании бергаптен подавлял липополисахарид-индуцированные провоспалительные реакции и связанный с ними пироптоз за счет восстановления митохондриального гомеостаза [17]. Митохондриально-ориентированные свойства другого природного объекта – байкалеина были продемонстрированы Х. Jin и соавт. (2023). Было установлено, что курсовое введение байкалеина способствовало повышению NIX-зависимых реакций митофагии в клетках гиппокампа мышей с депрессией [18]. Стоит отметить, что важным аспектом митохондриально-ориентированного действия соединения АТАСЛ можно считать повышения активности аконитазы. Аконитаза – железосернистый белок, играющий значимую роль в развитии митохондриальной дисфункции. Прежде всего, аконитаза катализирует одну из критических реакций цикла трикарбоновых кислот: переход цитрата в изоцитрат, в связи с чем дефицит активности данного фермента может негативно отражаться на ходе реакций окислительного фосфорилирования и соответственно синтеза АТФ. Также дисфункция аконитазы способствует генерации АФК, усугубляя повреждение клеточных компартментов посредством липопероксидативных процессов [19]. В связи с этим наблюдаемое на фоне применения соединения АТАСЛ восстановление активности аконитазы может положительно отражаться на ходе реакций синтеза макроэргических фосфатов и генерации АФК.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что курсовое введение соединения АТАСЛ животным с БП способствует восстановлению активности митохондриальных ферментов: цитратсинтазы, сукцинатдегидрогеназы,

цитохром-с-оксидазы и аконитазы. Это отражает существенное влияние данного соединения на митохондриальный гомеостаз, в частности реакции митохондриального биогенеза, митофагии, генерации АФК и синтеза АТФ.

Полученные данные позволяют предполагать актуальность дальнейшего изучения соединения АТАСЛ в качестве политаргетного нейропротекторного средства для лечения БП. ■

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ	ADDITIONAL INFORMATION
Этическая экспертиза. Дизайн работы был одобрен локальным этическим комитетом ПМФИ (протокол №8 от 07.07.2023), соответствовал положениям Директивы ЕС 2010/63 и принципам ARRIVE 2.0.	Ethical expertise. The design of the work was approved by the Local Ethical Committee of the PMPI (Protocol No. 8 dated 07.07.2023), complied with the provisions of the EU Directive 2010/63 and the principles of ARRIVE 2.0.
Источник финансирования. Работа выполнена по инициативе автора без привлечения финансирования.	Study funding. The study was the authors' initiative without external funding.
Конфликт интересов. Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием настоящей статьи.	Conflict of interest. The author declares that there are no obvious or potential conflicts of interest associated with the content of this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Tysnes OB, Storstein A. Epidemiology of Parkinson's disease. *J Neural Transm (Vienna)*. 2017;124(8):901-905. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00702-017-1686-y>
2. Alqahtani T, Deore SL, Kide AA, et al. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in Alzheimer's disease, and Parkinson's disease, Huntington's disease and Amyotrophic Lateral Sclerosis -An updated review. *Mitochondrion*. 2023;71:83-92. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mito.2023.05.007>
3. Eldeeb MA, Thomas RA, Ragheb MA, et al. Mitochondrial quality control in health and in Parkinson's disease. *Physiol Rev*. 2022;102(4):1721-1755. DOI: <https://doi.org/10.1152/physrev.00041.2021>
4. Blagov A, Postnov A, Sukhorukov V, et al. Significance of Mitochondrial Dysfunction in the Pathogenesis of Parkinson's Disease. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2024;29(1):36. DOI: <https://doi.org/10.31083/j.fbl2901036>
5. Wright R. Mitochondrial dysfunction and Parkinson's disease. *Nat Neurosci*. 2022;25(1):2. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41593-021-00989-0>
6. González-Rodríguez P, Zampese E, Stout KA, et al. Disruption of mitochondrial complex I induces progressive parkinsonism. *Nature*. 2021;599(7886):650-656. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04059-0>
7. Salamon A, Zádori D, Szpisjak L, et al. Neuroprotection in Parkinson's disease: facts and hopes. *J Neural Transm (Vienna)*. 2020;127(5):821-829. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00702-019-02115-8>
8. Pozdnyakov DI, Zolotykh DS, Larsky MV. The effect of cinnamic acid derivative on changes in the activity of mitochondrial respiratory chain complexes under conditions of experimental cerebral ischemia. *Issues of biological, medical and pharmaceutical chemistry*. 2020;23(6):50-54. [Поздняков Д.И., Золотых Д.С., Ларский М.В. Влияние производного коричной кислоты на изменение активности комплексов митохондриальной дыхательной цепи в условиях экспериментальной ишемии головного мозга. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2020;23(6):50-54]. DOI: <https://doi.org/10.29296/25877313-2020-06-09>
9. Percie du Sert N, Hurst V, Ahluwalia A, et al. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol*. 2020;18(7):p.e3000410. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000410>
10. Chen CN, Wang MH, Soung HS, et al. L-Theanine Ameliorated Rotenone-Induced Parkinsonism-like Symptoms in Rats. *Neurotox Res*. 2022;40(1):241-258. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12640-021-00451-w>

11. Bykov YuN, Bender TB. Medicinal methods of treatment of patients with Parkinson's disease. *Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2016;3-1(109):65-71. (In Russ.). [Быков Ю.Н., Бендер Т.Б. Медикаментозные методы лечения пациентов с болезнью Паркинсона. *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук*. 2016;3-1(109):65-71].
12. Kirova YuI, Germanova EL. New aspects of the energotropic action of mexidol. *Pathological physiology and experimental therapy*. 2018;62(4):36-40. [Кирова Ю.И., Германова Э.Л. Новые аспекты энерготропного действия мексидола. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2018;62(4):36-40]. DOI: <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2018.04.36-40>
13. Clark EH, Vázquez de la Torre A, Hoshikawa T, Briston T. Targeting mitophagy in Parkinson's disease. *J Biol Chem*. 2021;296:100209. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.REV120.014294>
14. Hicks AR, Reynolds RH, O'Callaghan B, et al. The non-specific lethal complex regulates genes and pathways genetically linked to Parkinson's disease. *Brain*. 2023;146(12):4974-4987. DOI: <https://doi.org/10.1093/brain/awad246>
15. Picca A, Faltg J, Auwerx J, et al. Mitophagy in human health, ageing and disease. *Nat Metab*. 2023;5(12):2047-2061. DOI: <https://doi.org/10.1038/s42255-023-00930-8>
16. Ay M, Luo J, Langley M, et al. Molecular mechanisms underlying protective effects of quercetin against mitochondrial dysfunction and progressive dopaminergic neurodegeneration in cell culture and MitoPark transgenic mouse models of Parkinson's Disease. *J Neurochem*. 2017;141(5):766-782. DOI: <https://doi.org/10.1111/jnc.14033>
17. Luo T, Jia X, Feng WD, et al. Bergapten inhibits NLRP3 inflammasome activation and pyroptosis via promoting mitophagy. *Acta Pharmacol Sin*. 2023;44(9):1867-1878. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41401-023-01094-7>
18. Jin X, Zhu L, Lu S, et al. Baicalin ameliorates CUMS-induced depression-like behaviors through activating AMPK/PGC-1α pathway and enhancing NIX-mediated mitophagy in mice. *Eur J Pharmacol*. 2023;938:175435. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2022.175435>
19. Chen Y, Cai GH, Xia B, et al. Mitochondrial aconitase controls adipogenesis through mediation of cellular ATP production. *FASEB J*. 2020;34(5):6688-6702. DOI: <https://doi.org/10.1096/fj.201903224RR>