

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ

«ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ФИЗИОЛОГИИ И ПАТОЛОГИИ ДЫХАНИЯ»

БЮЛЛЕТЕНЬ

ФИЗИОЛОГИИ И ПАТОЛОГИИ ДЫХАНИЯ

Выпуск 78

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР
академик РАН В.П.Колосов

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

И.А.Андриевская, д-р биол. наук
И.В.Довжикова, д-р биол. наук
Н.А.Ишутина, д-р биол. наук
А.Н.Одиреев, д-р мед. наук /отв. секретарь/
Ю.М.Перельман, член-корр. РАН, д-р мед. наук,
проф. /зам. редактора/
А.Г.Приходько, д-р мед. наук
В.П.Самсонов, д-р мед. наук, проф.

Благовещенск 2020

Редакционный совет

- М.В.Антонюк, д-р мед. наук, проф. (г. Владивосток)
Б.И.Гельцер, член-корр. РАН, д-р мед. наук, проф. (г. Владивосток)
Т.А.Гвозденко, д-р мед. наук (г. Владивосток)
В.А.Добрых, д-р мед. наук, проф. (г. Хабаровск)
И.В.Демко, д-р мед. наук, проф. (г. Красноярск)
Г.П. Евсеева, д-р мед. наук (г. Хабаровск)
Е.Л.Еремин, д-р техн. наук, проф. (г. Благовещенск)
Г.Л.Игнатова, д-р мед. наук, проф. (г. Челябинск)
П.Ф.Кику, д-р мед. наук, проф. (г. Владивосток)
В.К.Козлов, член-корр. РАН, д-р мед. наук, проф. (г. Хабаровск)
О.А.Лебедько, д-р мед. наук, проф. (г. Хабаровск)
Л.Г.Манаков, д-р мед. наук, проф. (г. Благовещенск)
С.В.Нарышкина, д-р мед. наук, проф. (г. Благовещенск)
В.А.Невзорова, д-р мед. наук, проф. (г. Владивосток)
Т.П.Новгородцева, д-р биол. наук, проф. (г. Владивосток)
В.И.Новосёлов, д-р биол. наук, проф. (г. Пущино)
А.Б.Пирогов, канд. мед. наук, доц. (г. Благовещенск)
С.К.Соодаева, д-р мед. наук, проф. (г. Москва)
Т.М.Сооронбаев, д-р мед. наук, проф. (г. Бишкек, Кыргызстан)
С.В.Супрун, д-р мед. наук (г. Хабаровск)
В.И.Трофимов, д-р мед. наук, проф. (г. Санкт-Петербург)
С.С.Целуйко, д-р мед. наук, проф. (г. Благовещенск)
Б.А.Черняк, д-р мед. наук, проф. (г. Иркутск)
С.Д.Чжоу, д-р мед. наук, проф. (г. Чунцин, КНР)
Я.Н.Шойхет, член-корр. РАН, д-р мед. наук, проф. (г. Барнаул)

Адрес редакции:

675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22
Телефон (факс) – (8-4162) 77-28-07
E-mail: bulleten.fpd@mail.ru; dncfpd@dncfpd.ru
<http://cfpd.ru>

**Журнал входит в Перечень ведущих рецензируемых научных изданий,
в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций
на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук.**

Журнал включен в Реферативный журнал и Базы данных ВИНИТИ.
Сведения о журнале публикуются в международной справочной системе
по периодическим и продолжающимся изданиям «Ulrich's Periodicals Directory»,
базах данных научных публикаций «Российский индекс научного цитирования», «Киберленинка»,
«Index Copernicus».

Основан в 1998 году

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и
массовых коммуникаций (регистрационный номер и дата принятия решения о регистрации:

серия ПИ № ФС77-76667 от 26 августа 2019 г.)

Подписной индекс в объединенном каталоге «Роспечать» 18454.

**FEDERAL STATE BUDGETARY
SCIENTIFIC INSTITUTION
FAR EASTERN SCIENTIFIC CENTER OF
PHYSIOLOGY AND PATHOLOGY
OF RESPIRATION**

BULLETIN

PHYSIOLOGY AND PATHOLOGY OF RESPIRATION

Issue 78

CHIEF EDITOR

V.P.Kolosov, MD, PhD, DSc, Professor,
Academician of RAS

ASSOCIATED EDITORS:

I.A.Andrievskaya, PhD, DSc

I.V.Dovzhikova, PhD, DSc

N.A.Ishutina, PhD, DSc

A.N.Odireev, MD, PhD, DSc /Executive Editor/

J.M.Perelman, MD, PhD, DSc, Professor, Corresponding
member of RAS /Assistant Chief Editor/

A.G.Prihodko, MD, PhD, DSc

V.P.Samsonov, MD, PhD, DSc, Professor

Blagoveshchensk 2020

Editorial Board

- M.V.Antonyuk, MD, PhD, DSc, Professor (*Vladivostok, Russian Federation*)
B.I.Geltser, MD, PhD, DSc, Professor, Corresponding member of RAS (*Vladivostok, Russian Federation*)
T.A.Gvozdenko, MD, PhD, DSc (*Vladivostok, Russian Federation*)
V.A.Dobrykh, MD, PhD, DSc, Professor (*Khabarovsk, Russian Federation*)
I.V.Demko, MD, PhD, DSc, Professor (*Krasnoyarsk, Russian Federation*)
G.P.Evseeva, MD, PhD, DSc (*Khabarovsk, Russian Federation*)
E.L.Eremin, PhD, DSc, Professor (*Blagoveshchensk, Russian Federation*)
G.L.Ignatova, MD, PhD, DSc, Professor (*Chelyabinsk, Russian Federation*)
P.F.Kiku, MD, PhD, DSc, Professor (*Vladivostok, Russian Federation*)
V.K.Kozlov, MD, PhD, DSc, Professor, Corresponding member of RAS (*Khabarovsk, Russian Federation*)
O.A.Lebedko, MD, PhD, DSc (*Khabarovsk, Russian Federation*)
L.G.Manakov, MD, PhD, DSc, Professor (*Blagoveshchensk, Russian Federation*)
S.V.Naryshkina, MD, PhD, DSc, Professor (*Blagoveshchensk, Russian Federation*)
V.A.Nevzorova, MD, PhD, DSc, Professor (*Vladivostok, Russian Federation*)
T.P.Novgorodtseva, PhD, DSc, Professor (*Vladivostok, Russian Federation*)
V.I.Novoselov, PhD, DSc, Professor (*Pushchino, Russian Federation*)
A.B.Pirogov, MD, PhD, Associate Professor (*Blagoveshchensk, Russian Federation*)
S.K.Soodaeva, MD, PhD, DSc, Professor (*Moscow, Russian Federation*)
T.M.Sooronbaev, MD, PhD, DSc, Professor (*Bishkek, Kyrgyzstan*)
S.V.Suprun, MD, PhD, DSc (*Khabarovsk, Russian Federation*)
V.I.Trofimov, MD, PhD, DSc, Professor (*St.Petersburg, Russian Federation*)
S.S.Tseluyko, MD, PhD, DSc, Professor (*Blagoveshchensk, Russian Federation*)
B.A.Chernyak, MD, PhD, DSc, Professor (*Irkutsk, Russian Federation*)
X.D.Zhou, MD, PhD, DSc, Professor (*Chongqing, China*)
Ya.N.Shoikhet, MD, PhD, DSc, Professor, Corresponding member of RAS (*Barnaul, Russian Federation*)

Editorial office:

22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

Phone (fax) – (8-4162) 77-28-07

E-mail: bulleten.fpd@mail.ru; dncfpd@dncfpd.ru

<http://cfpd.ru>

СОДЕРЖАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- О.Е.Троценко, Т.В.Корита, Е.А.Базыкина, О.П.Курганова, Т.А.Зайцева, М.Е.Игнатьева, Т.Н.Детковская, О.А.Фунтусова, Е.Ю.Сапега, Л.В.Бутакова.* Особенности эпидемиологии и циркуляции возбудителей острых респираторно-вирусных инфекций в ряде регионов Дальнего Востока России на протяжении двух эпидемических сезонов (2017-2018 и 2018-2019 годы).. 8
- Д.Ю.Костенко, И.В.Зайкова-Хелимская.* Оценка влияния и коррекции пневмоцистной инфекции на клинико-лабораторные характеристики хронической обструктивной болезни легких..... 23
- И.Ю.Сугайло, О.О.Котова, Д.А.Гассан, Д.Е.Наумов, Е.Ю.Афанасьева, Т.А.Мальцева.* Особенности экспрессии каналов TRPV1, TRPV4, TRPM8 и TRPA1 в макрофагах, полученных из моноцитов больных хронической обструктивной болезнью легких..... 31
- О.О.Котова, Д.Е.Наумов, Е.Ю.Афанасьева, А.Н.Одиреев, Ю.М.Перельман.* Анализ уровней экспрессии генов *TRPV* в респираторном эпителии больных бронхиальной астмой с осмотической гиперреактивностью дыхательных путей..... 40
- А.Г.Приходько, А.Б.Пирогов, Ю.М.Перельман.* Роль нейтрофилов и эпителия бронхов в потере контроля над бронхиальной астмой и формировании реакции дыхательных путей на холодной стимул..... 47
- А.Б.Пирогов, И.А.Андриевская, А.Г.Приходько, Ю.М.Перельман.* Гидролитические ферменты нейтрофильных гранулоцитов дыхательных путей у больных бронхиальной астмой при воздействии холодного стимула..... 56

CONTENTS

ORIGINAL RESEARCH

- O.E.Trotsenko, T.V.Korita, E.A.Bazykina, O.P.Kurganova, T.A.Zaitseva, M.E.Ignatyeva, T.N.Detkovskaya, O.A.Funtusova, E.Yu.Sapega, L.V.Butakova.* Peculiarities of acute viral respiratory infections pathogens epidemiology and circulation in some regions of the Russian Far East during two epidemic seasons (2017-2018 and 2018-2019 years)
- D.Y.Kostenko, I.V.Zaikova-Khelimskaia.* Evaluation of the influence and correction of pneumocystis infection on clinical and laboratory characteristics of chronic obstructive pulmonary disease
- I.Yu.Sugaylo, O.O.Kotova, D.A.Gassan, D.E.Naumov, E.Yu.Afanas'eva, T.A.Maltseva.* Peculiarities of TRPV1, TRPV4, TRPM8 and TRPA1 expression in monocyte-derived macrophages from COPD patients
- O.O.Kotova, D.E.Naumov, E.Yu.Afanas'eva, A.N.Odireev, J.M.Perelman.* Analysis of *TRPV* gene expression in the respiratory epithelium of asthma patients with osmotic airway hyperresponsiveness
- A.G.Prikhodko, A.B.Pirogov, J.M.Perelman.* Role of neutrophils and bronchial epithelium in loss of control of bronchial asthma and formation of respiratory tract response to cold stimulus
- A.B.Pirogov, I.A.Andrievskaya, A.G.Prikhodko, J.M.Perelman.* Hydrolytic enzymes of airway neutrophilic granulocytes in patients with asthma under cold stimuli exposure

- Е.Ю.Афанасьева, А.Г.Приходько, В.П.Колосов, А.Н.Гребенюк, Ю.М.Перельман.* Технология определения клиничко-анамнестических маркеров холодовой и осмотической гиперреактивности дыхательных путей 66
- Е.Е.Минеева, М.В.Антонюк, А.В.Юренко, Т.А.Гвозденко, А.А.Уксуменко.* Дисфункция малых дыхательных путей и состояние легочной функции при легкой бронхиальной астме..... 76
- Е.В.Крюков, О.И.Савушкина, М.М.Малашенко, А.В.Черняк, И.А.Бобр, Р.Р.Исмагилова.* Влияние комплексной медицинской реабилитации на функциональные показатели системы дыхания и качество жизни у больных, перенесших COVID-19..... 84
- А.И.Мирошниченко, А.К.Кунарбаева, К.М.Иванов, И.В.Мирошниченко.* Состояние дыхательных мышц при obstructивных нарушениях дыхания во сне по данным электромиографического исследования..... 92
- А.А.Синюк, В.В.Войцеховский.* Плевриты у больных хроническим лимфолейкозом. 99
- М.А.Уракова.* Негазообменные функции лёгких при экспериментальном алкоголизме и его сочетании с черепно-мозговой травмой..... 104
- И.Н.Гориков.* Состояние иммунной системы у женщин с обострением цитомегаловирусной инфекции в третьем триместре беременности..... 110
- Н.А.Ишутина, И.А.Андриевская, Н.Г.Приходько.* Показатели сосудисто-эндотелиального фактора роста и докозагексаеновой кислоты у беременных женщин с угрожающим течением беременности ранних сроков, ассоциированным с цитомегаловирусной инфекцией..... 116
- E.Yu.Afanas'eva, A.G.Prikhodko, V.P.Kolosov, A.N.Grebenyuk, J.M.Perelman.* Technology for determining clinical-anamnestic markers of cold and osmotic airway hyperresponsiveness
- E.E.Mineeva, M.V.Antonyuk, A.V.Yurenko, T.A.Gvozdenco, A.A.Uksumenko.* Small airways dysfunction and the state of lung function in mild asthma
- E.V.Kryukov, O.I.Savushkina, M.M.Malashenko, A.V.Cherniak, I.A.Bobr, R.R.Ismagilova.* Influence of complex medical rehabilitation on pulmonary function and quality of life in patients after COVID-19
- A.I.Miroshnichenko, A.K.Kunarbaeva, K.M.Ivanov, I.V.Miroshnichenko.* The condition of the respiratory muscles in obstructive sleep disordered breathing according to electromyographic data
- A.A.Sinyuk, V.V.Voitsekhovskiy.* Pleurisy in patients with chronic lymphoid leukemia
- M.A.Urakova.* Non-gas exchange lung functions in experimental alcohol addiction and its combination with traumatic brain injury
- I.N.Gorikov.* State of the immune system in women with exacerbation of cytomegalovirus infection in the third trimester of pregnancy
- N.A.Ishutina, I.A.Andrievskaya, N.G.Prikhodko.* Indicators of vascular-endothelial growth factor and docosahexaenoic acid in pregnant women with threatening course of early pregnancy associated with cytomegalovirus

И.А. Андриевская, И.Н. Гориков, И.А. Андриевская, И.Н. Гориков, Н.А. Ишутина, Л.М. Сомова, Н.А. Ишутина, Л.М. Сомова, А.Н. Одириев, И.В. Довжикова, В.П. Самсонов. Изменение физико-биохимических свойств носоглоточного аспирата у новорожденных с врожденной цитомегаловирусной инфекцией... 122

Д.А. Гассан, О.О. Котова, Д.Е. Наумов, И.Ю. Сугайло, Я.Г. Горчакова, А.А. Синюк. Сравнительная характеристика условий выделения моноцитов методом адгезии для экспериментов *in vitro*..... 128

ОБЗОРЫ

Е.А. Базыкина, О.Е. Троценко. Особенности пневмоний, вызванных новым коронавирусом SARS-CoV-2 (обзор литературы)..... 135

Ю.В. Вахненко, И.Е. Доровских, Е.Н. Гордиенко, М.А. Черных. Некоторые актуальные аспекты проблемы «спортивного сердца» (обзор литературы). Часть I..... 147

В.В. Войцеховский, А.В. Пивник, Е.А. Филатова, Т.В. Есенина, К.М. Мишкурова, Н.А. Федорова. Коагулопатия при интоксикации родентицидами – антагонистами витамина К..... 161

REVIEWS

E.A. Bazykina, O.E. Trotsenko. Peculiarities of community acquired pneumonia triggered by novel coronavirus SARS-CoV-2 (review)

Yu. V. Vakhnenko, I. E. Dorovskikh, E. N. Gordienko, M. A. Chernykh. Some topical aspects of the problem of "sports heart" (review). Part I

V. V. Voytsekhovskiy, A. V. Pivnik, E. A. Filatova, T. V. Esenina, K. M. Mishkurova, N. A. Fedorova. Coagulopathy at intoxication with rodenticides – antagonists of vitamin K

УДК 616.2-022.6-036.11-036.22:001.8(571.6)“2017/-2019”

DOI: 10.36604/1998-5029-2020-78-8-22

ОСОБЕННОСТИ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И ЦИРКУЛЯЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНО-ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ В РЯДЕ РЕГИОНОВ ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА РОССИИ НА ПРОТЯЖЕНИИ ДВУХ ЭПИДЕМИЧЕСКИХ СЕЗОНОВ (2017-2018 И 2018-2019 ГОДЫ)

О.Е.Троценко¹, Т.В.Корита¹, Е.А.Базыкина¹, О.П.Курганова², Т.А.Зайцева³, М.Е.Игнатъева⁴,
Т.Н.Детковская⁵, О.А.Фунтусова⁶, Е.Ю.Сапега¹, Л.В.Бутакова¹

¹Федеральное бюджетное учреждение науки «Хабаровский научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и
благополучия человека, 680610, г. Хабаровск, ул. Шевченко, 2

²Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по
Амурской области, 675002, г. Благовещенск, ул. Первомайская, 30

³Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по
Хабаровскому краю, 680009, г. Хабаровск, ул. Карла Маркса, 109 б

⁴Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по
республике Саха (Якутия), 677027, г. Якутск, ул. Ойунского, 9

⁵Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по
Приморскому краю, 690950, г. Владивосток, ул. Сельская, 3

⁶Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по
Сахалинской области, 693020, г. Южно-Сахалинск, ул. Чехова, 30-А

РЕЗЮМЕ. Цель. Выявление особенностей заболеваемости населения острыми респираторно-вирусными инфекциями (ОРВИ) в Дальневосточном федеральном округе в зависимости от доминирования в этиологии заболеваний отдельных видов вирусов на протяжении двух эпидемических сезонов (2017-2018 и 2018-2019 гг.). **Материалы и методы.** Использована методика эпидемиологического анализа путём сравнения текущей заболеваемости ОРВИ с недельными эпидемическими порогами. Лабораторная диагностика респираторных вирусов проведена с помощью метода RT-PCR с использованием тест-систем Центрального НИИ эпидемиологии. Для оценки связи между заболеваемостью ОРВИ и долями отдельных вирусов в этиологической структуре применен метод корреляционно-регрессионного анализа. **Результаты.** В охваченных наблюдениями субъектах Дальнего Востока выявлена тождественность направленности эпидемической тенденции по ОРВИ с разной степенью её выраженности. Наибольшая активность эпидемического процесса отмечена в Республике Саха (Якутия) и Сахалинской области. В южных регионах (Хабаровском, Приморском краях и Амурской области) наблюдались более низкие показатели заболеваемости, эпизодически превышающие эпидемические пороги. Этиологии заболеваний на Дальнем Востоке присуща территориальная и временная неравномерность. Статистически значимый вклад в заболеваемость в сезон 2017-2018 гг. внесли вирусы гриппа В – в Приморском и Хабаровском краях, вирусы гриппа А(Н3N2) – в Сахалинской области, респираторно-синцитиальные вирусы в Республике Саха (Якутия) и риновирусы – в Амурской области. Сезон 2018-2019 гг. отличала преимущественная обусловленность заболеваний вирусами гриппа А(Н1N1)pdm09 в большинстве территорий Дальнего Востока. В отличие от других регионов, в Амурской области выявлена уникальная своеобразность в циркуляции респираторных вирусов, проявившаяся су-

Контактная информация

Ольга Евгеньевна Троценко, д-р мед. наук, директор Федерального бюджетного учреждения науки «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 680610, Россия, г. Хабаровск, ул. Шевченко, 2. E-mail: trotsenko_oe@hniiem.ru

Correspondence should be addressed to

Olga E. Trotsenko, MD, PhD, D.Sc. (Med.), Director of Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 2 Shevchenko Str., Khabarovsk, 680610, Russian Federation. E-mail: trotsenko_oe@hniiem.ru

Для цитирования:

Троценко О.Е., Корита Т.В., Базыкина Е.А., Курганова О.П., Зайцева Т.А., Игнатъева М.Е., Детковская Т.Н., Фунтусова О.А., Сапега Е.Ю., Бутакова Л.В. Особенности эпидемиологии и циркуляции возбудителей острых респираторно-вирусных инфекций в ряде регионов Дальнего Востока России на протяжении двух эпидемических сезонов (2017-2018 и 2018-2019 годы) // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2020. Вып.78. С.8–22. DOI: 10.36604/1998-5029-2020-78-8-22

For citation:

Trotsenko O.E., Korita T.V., Bazykina E.A., Kurganova O.P., Zaitseva T.A., Ignatyeva M.E., Detkovskaya T.N., Funtusova O.A., Sapaga E.Yu., Butakova L.V. Peculiarities of acute viral respiratory infections pathogens epidemiology and circulation in some regions of the Russian Far East during two epidemic seasons (2017-2018 and 2018-2019 years). *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2020; (78):8–22 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2020-78-8-22

ществленным влиянием вирусов негриппозной этиологии на эпидемический процесс на протяжении двух анализируемых сезонов. **Заключение.** Постоянное изучение эпидемий ОРВИ в условиях меняющегося пейзажа циркулирующих в конкретном регионе вирусов может быть полезным для определения стратегии и тактики противоэпидемических мероприятий.

Ключевые слова: Дальневосточный федеральный округ, острые респираторно-вирусные заболевания, эпидемический процесс, эпидемические сезоны, этиологическая структура.

PECULIARITIES OF ACUTE VIRAL RESPIRATORY INFECTIONS PATHOGENS EPIDEMIOLOGY AND CIRCULATION IN SOME REGIONS OF THE RUSSIAN FAR EAST DURING TWO EPIDEMIC SEASONS (2017-2018 AND 2018-2019 YEARS)

O.E.Trotsenko¹, T.V.Korita¹, E.A.Bazykina¹, O.P.Kurganova², T.A.Zaitseva³, M.E.Ignatyeva⁴, T.N.Detkovskaya⁵,
O.A.Funtusova⁶, E.Yu.Sapega¹, L.V.Butakova¹

¹Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 2 Shevchenko Str., Khabarovsk, 680610, Russian Federation

²Amur Oblast Regional Office of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 30 Pervomayskaya Str., Blagoveshchensk, 675002, Russian Federation

³Khabarovsk Krai Regional Office of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 109 b Karl Marks Str., 680009, Khabarovsk, Russian Federation

⁴Republic Sakha (Yakutia) Regional Office of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 9 Oiunskogo Str., 677027, Yakutsk, Russian Federation

⁵Primorsky Krai Regional Office of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 3 Selskaya Str., 690950, Vladivostok, Russian Federation

⁶Sakhalin Oblast Regional Office of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 30-A Chekhov Str., 693020, Yuzhno-Sakhalinsk, Russian Federation

SUMMARY. Aim. To reveal peculiarities of acute respiratory viral infections (ARVI) incidence among population of the Far Eastern Federal District depending on viral etiology during two epidemic seasons (2017-2018 and 2018-2019).

Materials and methods. Method of epidemiological analysis by means of ARVI incidence with weekly epidemic thresholds as utilized. Laboratory diagnosis of respiratory viruses was carried out by applying RT-PCR method and test-kits of the Central Research Institute of Epidemiology. In order to determine relations between ARVI incidence and viral etiological structure of ARVI correlation and regression analysis was performed. **Results.** Identical epidemical tendencies with differences in ARVI incidence intensity were registered in the evaluated constituent entities of the Russian Far East. Utmost intensity of epidemic process was revealed in the Republic Sakha (Yakutia) and Sakhalin Oblast. In the south regions (Khabarovsk and Primorsky Krai, Amur Oblast) ARVI incidence, occasionally exceeding epidemic threshold was lower. Territorial and time irregularity is peculiar for etiology of infections in the Russian Far East. During the epidemic season of 2017-2018 statistically significant prevalence was determined for the influenza virus B in Primorsky and Khabarovsk Krai, influenza virus A(H3N2) – in the Sakhalin Oblast, respiratory syncytial virus – in the Republic Sakha (Yakutia), rhinoviruses were dominant in the Amur Oblast. During the 2018-2019 epidemic season influenza virus A(H1N1)pdm09 was mostly prevalent in most of the constituent entities of the Russian Far East. Compared to the other regions of the Far Eastern Federal District in the Amur Oblast were revealed differences in circulation of respiratory viruses predominantly of non-influenza origin during two observed epidemic seasons. **Conclusion.** Constant evaluation of ARVI epidemics under the conditions of constantly changing landscape of circulating viruses in a particular region can be useful for determination of strategies and tactics of epidemiological response.

Key words: Far Eastern Federal District, acute respiratory viral diseases, epidemic process, epidemic seasons, etiological structure.

Острые респираторно-вирусные инфекции (ОРВИ) представляет собой группу заболеваний, передающихся преимущественно воздушно-капельным путем и характеризующихся катаральным воспалением верхних дыхательных путей. Возбудителями ОРВИ являются в основном вирусы, относящиеся к шести семействам: ортомиксовирусы (вирусы гриппа), парамиксовирусы (респираторно-синцитиальный вирус, метапневмовирус, вирусы парагриппа 1-4 типов), коронавирусы, пикорнавирусы (риновирусы), аденовирусы, парвовирусы (бокавирусы) (Санитарно-

эпидемиологические правила СП 3.1.2.3117-13 «Профилактика гриппа и других острых респираторных вирусных инфекций»).

Среди вирусов, представляющих серьезную потенциальную угрозу здоровью населения, особое место занимают представители ортомиксовирусов, в семействе которых выделяют три рода – вирусы гриппа типов А, В, С, дифференцируемые по антигенным и генетическим особенностям. В последние годы (с 1977 г.) заболевания у людей вызывают преимущественно вирусы гриппа А подтипов А(H1N1) и А(H3N2) [1].

Следует отметить, что вирусы гриппа А, циркулирующие у людей и животных, в процессе эволюции подвергаются реассортации (обмену сегментами генома), в связи с чем периодически возникают новые антигенные варианты вируса, способные преодолевать межвидовые барьеры. Так, пандемия гриппа 2009 г. была вызвана вирусом гриппа А(Н1N1)pdm2009, охарактеризованным как тройной реассортант, несущий сегменты вирусов гриппа птиц, вирусов гриппа свиней и эпидемических штаммов человека [2].

Развитие эпидемического процесса (ЭП) при гриппе и других ОРВИ негриппозной этиологии зависит от природно-географических, биологических и социальных факторов. Эпидемические подъемы заболеваемости ОРВИ приходится чаще всего на холодное время года, при этом циркуляция возбудителей облегчается длительным контактом людей в помещениях [3].

В годовой динамике заболеваемости ОРВИ показатели изменяются во времени: низкие уровни характерны для летних месяцев года, сезонное повышение начинается, как правило, с сентября и продолжается в зимне-весенние месяцы. На фоне сезонного подъема ОРВИ периодически развиваются эпидемии гриппа [4, 5]. Так, исследованиями Л.С.Карповой и соавт. [5] подтверждена выраженная зимняя сезонность гриппа А(Н1N1)pdm2009, зимне-весенняя – для гриппа А(Н3N2) и для гриппа В. Для ряда негриппозных вирусов авторы также продемонстрировали сезонность: зимне-весеннюю – для РС-, корона- и метапневмовирусов, осенне-зимнюю – для адено-, бокавирусов и вирусов парагриппа, осеннюю – для риновирусной инфекции.

Присущая ОРВИ полиэтиологичность заболеваний обуславливает неоднородность структуры возбудителей и её изменчивость не только во времени, но и в пространстве [6]. Относительное значение в распределении заболеваний ОРВИ среди населения имеет территория его проживания. В настоящее время представление о региональном распределении отдельных нозологических форм болезней из группы ОРВИ можно получить на основе лабораторной диагностики, которая проводится вирусологическими лабораториями во всех субъектах РФ, включая субъекты Дальневосточного федерального округа (ДФО).

Обширная территория ДФО и своеобразная инфраструктура, присущая практически каждому субъекту данного макрорегиона, в совокупности определяют особенности заболеваний респираторного тракта у населения. Так, наличие территориальных различий в основных показателях заболеваемости болезнями органов дыхания (в частности, пневмонией, хроническим бронхитом, бронхиальной астмой и пр.) четко продемонстрировано в исследованиях Л.Г.Манакова и В.П.Колосова [7]. Авторы показали, что степень выраженности перечисленных заболеваний обусловлена природно-климатическими и социально демографиче-

скими особенностями среды обитания.

Изучение эпидемиологических особенностей и циркуляции возбудителей острых респираторно-вирусных заболеваний в ряде территорий ДФО имеет существенное значение для совершенствования эпидемиологического надзора за острыми респираторными заболеваниями и представляет научно-практический интерес.

Цель данного исследования – выявление особенностей заболеваемости ОРВИ в ДФО в зависимости от доминирования в этиологии заболеваний отдельных видов вирусов на протяжении двух эпидемических сезонов (2017-2018 и 2018-2019 гг.).

Материалы и методы исследования

Исходя из факта тождества уровней социально-экономического развития, представленного в работе С.А.Богачевской [8] по кластеризации регионов Дальнего Востока России, в настоящий анализ включены 5 субъектов ДФО – Амурская область, Хабаровский и Приморский края, Республика Саха (Якутия) и Сахалинская область. Несмотря на наиболее высокий в ДФО социально-экономический уровень, выделенные нами 5 субъектов ДФО отличаются климатогеографической обстановкой, оказывающей существенное влияние на заболеваемость ОРВИ среди проживающего населения (Амурская область, Хабаровский и Приморский края представляют южную зону Дальневосточного региона, Республика Саха (Якутия) – северную и Сахалинская область – островную его часть).

Мониторинг заболеваемости гриппом и ОРВИ негриппозной этиологии осуществляли в указанных субъектах ДФО путем сбора и автоматизированной обработки еженедельной информации о числе заболеваний гриппом и ОРВИ, а также о лабораторно подтвержденных случаях заболеваний. В лабораторное исследование включено 8623 пациента с симптомами ОРВИ, в том числе в Республике Саха Якутия – 728 и 1682 чел., в Приморском крае – 886 и 857 чел., в Хабаровском крае – 526 и 852 чел., в Амурской области – 555 и 927 чел., в Сахалинской области – 719 и 891 чел., соответственно, в сезоны 2017-2018 и 2018-2019 гг.

Известно, что более точное определение показателей заболеваемости населения отдельными нозологическими формами ОРВИ следует проводить на основе результатов их этиологической расшифровки в течение всего года, особенно в период сезонного подъема ОРВИ, т.е. с сентября по май [6]. В нашем исследовании за основу анализа взят промежуток подъема заболеваемости суммой ОРВИ, совпадающий с эпидемическим сезоном по гриппу – с 51-52 по 17-18 календарные недели, приходящиеся на зимне-весенний период (с третьей декады декабря по конец апреля), на протяжении двух периодов наблюдения: 2017-2018 и 2018-2019 гг.

Использованная методика эпидемиологического анализа основана на сравнении текущей заболеваемо-

сти ОРВИ с недельными эпидемическими порогоми для всего населения отдельно взятого субъекта Дальневосточного региона. Эпидемический порог представляет собой суммарный уровень заболеваемости гриппом и ОРВИ, получаемый расчётным методом на основании среднесезонных данных в конкретный период времени и на конкретной территории [5, 9].

Эпидемиологическим критерием распознавания начала эпидемического сезона ОРВИ считали устойчивое превышение недельных эпидемических порогов в сочетании с нарастанием темпов прироста (более чем на 20,0%) заболеваемости в сравнении с предыдущими неделями. Снижение интенсивного показателя заболеваемости гриппом и ОРВИ до уровня эпидемического порога являлось признаком окончания эпидемии. Данный анализ позволял определить продолжительность эпидемического подъема заболеваемости ОРВИ и очередность вовлечения в эпидемию населения разных регионов [5]. В случае, если за анализируемую неделю показатели заболеваемости оказывались ниже эпидемических порогов, ситуация по заболеваемости гриппом и ОРВИ оценивалась как благополучная.

Дополнительным фактором оценки эпидемиологической ситуации по ОРВИ служили результаты вирусологической диагностики. Диагностика возбудителей ОРВИ проводилась в лабораториях Центров гигиены и эпидемиологии с помощью метода RT-PCR с использованием тест-системы «АмплиСенс® ОРВИ-скрин-Fl» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора) и набора реагентов для выявления: РНК респираторно-синцитиального вируса, метапневмовируса, вирусов парагриппа 1, 2, 3, 4, типов, коронавирусов, риновирусов, ДНК аденовирусов и бокавируса в клиническом материале методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией, фирмы ИнтерЛабСервис, в соответствии с прилагаемой инструкцией. Для диагностики гриппа применялись тест-системы «АмплиСенс® Influenza virus A/B-Fl», «АмплиСенс® Influenza virus A-тип-Fl» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора), в соответствии с прилагаемой инструкцией.

Статистическую обработку полученных результатов исследования и их калькуляцию осуществляли с помощью интернет-портала «Медицинская статистика» (Medstatistic) Казанского государственного медицинского университета. Для оценки связи между заболеваемостью ОРВИ и долями отдельных возбудителей в этиологической структуре лабораторно подтвержденных заболеваний применен метод корреляционно-регрессионного анализа [10].

В качестве показателя тесноты связи между количественными показателями x и y , имеющими нормальное распределение, использовался коэффициент корреляции r_{xy} Пирсона, который рассчитывался по следующей формуле: $r_{xy} = \Sigma(d_x \times d_y) / \sqrt{\Sigma(d_x^2 \times d_y^2)}$. Оценка статистической значимости корреляционной связи осуществлялась с помощью t -критерия, рассчитываемого по формуле: $t_r = r_{xy} \sqrt{n-2} / \sqrt{1-r_{xy}^2}$

Полученное значение t_r сравнивалось с критическим значением $t_{крит}$ при определенном уровне значимости и числе степеней свободы ($n-2$). Если t_r превышал $t_{крит}$, то делался вывод о значимости параметра. Значения коэффициента корреляции r_{xy} интерпретировались в соответствии со шкалой Чеддока: при r_{xy} менее 0,1 связь отсутствовала; при значениях 0,1-0,2 – теснота корреляционной связи расценивалась как слабая; 0,3-0,5 – как умеренная; 0,5-0,7 – как заметная; 0,7-0,9 – как высокая; 0,9-0,99 – как весьма высокая.

Результаты исследования и их обсуждение

Эпидемиологический анализ недельных показателей заболеваемости ОРВИ, проведенный с 51 по 17 календарные недели в течение двух сезонов 2017-2018 и 2018-2019 гг., выявил общую для всех пяти охваченных наблюдением субъектов ДФО направленность в динамике развития ЭП (рис. 1, 2).

Так, в отрезке с 51 по 2 календарную неделю в период двух анализируемых сезонов выявлена тенденция к снижению уровня заболеваемости ОРВИ, что вполне вероятно связано с разобщением людей в период новогодних каникул. Начиная с 3 календарной недели, вплоть до 5-7 недели, на всех территориях отмечена тенденция роста недельных показателей заболеваемости. В дальнейшем, несмотря на разную степень колебания уровней, заболеваемость имела общую тенденцию к снижению по 14 календарную неделю включительно, а с 15 по 17 неделю произошла относительная стабилизация её уровней.

Несмотря на практически одинаковую направленность, выраженность эпидемической тенденции ОРВИ оказалась различной как по регионам ДФО, так и по сравниваемым эпидемическим сезонам. Наиболее высокие суммарные (за 17 анализируемых недель) показатели заболеваемости зарегистрированы в течение двух сезонов в северной части Дальневосточного региона – в Республике Саха Якутия – 1634,0 и 2059,1 на 10 тыс. населения в 2017-2018 и 2018-2019 гг., соответственно (табл. 1). Превышение недельных уровней заболеваемости ОРВИ над расчетными эпидемическими порогоми зарегистрировано в данном субъекте одновременно в период обоих сезонных периодов – с 3 календарной недели, затем в сезон 2017-2018 гг. оно продолжалось на протяжении 11 календарных недель с показателями заболеваемости 69,2 на 3 неделе; максимум – 113,0 на 9 неделе; 80,7 случаев на 10 тысяч населения – на 13 неделе. Превышение над эпидемическими порогоми, соответственно, составило +30,8, +74,1 и +10,4%. Продолжительность эпидемического подъема заболеваемости ОРВИ в Республике в сезон 2018-2019 гг. была на 3 недели дольше и составила 14 недель – с 3 по 16 календарную неделю. Кроме того, интенсивность нарастания недельных показателей над эпидемическими порогоми оказалась более выраженной. Её уровни варьировали от 77,3 на 3 неделе, до 180,2 – на 9 неделе и затем до 86,5 случаев на 10 тысяч

населения – на 16 неделе (превышение уровней над эпидемическими порогами составило, соответственно, +46,1, +177,7 и +26,1%). В период обоих сезонов пик заболеваемости ОРВИ пришелся в Якутии на 9 календарную неделю, то есть на конец февраля – начало марта.

Этиологическая структура возбудителей ОРВИ в Якутии существенно отличалась в анализируемые сезоны (табл. 2). Суммарная активность вирусов гриппа оказалась почти в 2 раза большей в анализируемый сезон 2018-2019 гг., что вполне вероятно и обусловило наибольшую активность ЭП ОРВИ в данный период наблюдения. При этом, наибольший удельный вес в Республике Саха (Якутия) пришелся на пандемический вариант вируса гриппа А (20,4±0,98%), доля сезонного гриппа А(Н3N2) оказалась незначительной и составила 8,3±0,67%, еще меньший процент (4,9±0,53%) при-

шелся на долю гриппа В.

Анализ долевого участия разных вирусных возбудителей ОРВИ, выполненный на основе результатов лабораторной диагностики, выявил в этиологическом пейзаже респираторных вирусов в Якутии в сезон 2017-2018 гг. превалирование не гриппозных вирусов, а именно респираторно-синцитиального (РС) вируса и вирусов парагриппа. В сезон 2018-2019 гг. ведущее место, наряду с вирусами парагриппа, занял вирус гриппа А(Н1N1)pdm09. Для выявления статистически значимой связи подъема заболеваемости ОРВИ с этиологией возбудителей проведен множественный корреляционно-регрессионный анализ, который подтвердил в Республике Саха (Якутия) существенный вклад в заболеваемость ОРВИ РС-вирусов в сезон 2017-2018 гг. и вирусов гриппа, особенно гриппа А(Н1N1)pdm09, – в сезон 2018-2019 гг. (рис. 3, 4).

Таблица 1

Заболеваемость суммой ОРВИ в ДФО в эпидемические сезоны гриппа 2017-2018 и 2018-2019 гг.

Территория ДФО	Годы	Номер календарной недели, показатели заболеваемости на 10 тыс. населения																	Итого		
		51	52	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		16	17
Амурская область	2017-2018	36,6	36,8	37,1	23,5	29,4	35,3	35,4	49,7	62,2	67,8	56,0	50,3	40,8	41,7	35,1	28,7	30,1	28,4	27,0	751,9
	2018-2019	32,8	34,6	35,9	18,8	29,5	34,9	51,7	81,1	86,6	67,3	52,4	42,2	32,3	34,4	32,7	31,1	28,9	24,7	25,5	777,4
Хабаровский край	2017-2018	59,0	56,9	55,4	39,1	43,8	55,5	64,5	74,1	82,9	73,9	93,9	51,7	79,0	67,7	56,6	56,6	50,6	47,2	40,6	1149,0
	2018-2019	57,9	55,0	54,1	42,1	62,2	100,3	113,6	112,0	89,5	67,9	58,9	39,4	47,2	43,4	39,2	40,2	40,2	43,2	40,0	1146,3
Приморский край	2017-2018	34,2	34,3	35,8	26,2	32,2	39,2	50,3	55,2	60,7	54,7	67,6	35,9	49,9	40,7	33,9	32,2	31,9	29,5	32,0	776,4
	2018-2019	43,1	43,6	41,9	27,8	41,6	56,8	75,9	71,5	61,1	56,6	49,5	38,0	44,0	38,4	36,1	32,3	32,0	39,1	29,1	858,4
Сахалинская область	2017-2018	67,7	51,7	49,0	22,7	34,7	48,3	53,8	92,3	107,0	103,9	108,9	71,6	85,3	73,7	56,9	50,5	56,8	53,7	46,6	1235,1
	2018-2019	51,3	58,4	52,4	23,5	38,1	51,9	63,3	93,0	123,0	113,8	115,5	85,9	80,1	67,0	67,0	45,4	48,6	47,4	45,6	1271,2
Республика Саха (Якутия)	2017-2018	74,7	69,6	60,6	53,2	69,2	95,1	114,2	112,8	105,5	91,1	113,0	87,4	113,4	92,7	80,7	77,1	73,1	78,3	72,3	1634,0
	2018-2019	116,0	74,9	65,3	50,8	77,3	139,1	173,1	142,8	117,1	123,0	180,2	130,3	145,9	113,1	86,0	86,2	84,7	86,5	66,8	2059,1

Примечание: выделенное п/ж шрифтом – период превышения заболеваемости суммой ОРВИ над расчетным эпидемическим порогом

Так, коэффициент корреляции между показателями заболеваемости ОРВИ и удельным весом РС-вирусов составил в Якутии в сезон 2017-2018 гг. 0,616; сила отмеченной прямой связи по шкале Чеддока оценена как заметная, зависимость признаков оказалась статистически значимой ($p=0,005328$). Коэффициент корреляции между показателями заболеваемости ОРВИ и удельным весом вируса гриппа А(Н1N1)pdm09 составил в Якутии в сезон 2018-2019 гг. 0,600; сила отмеченной прямой связи по шкале Чеддока оценена как заметная, зависимость признаков была статистически значимой ($p=0,007014$).

Второе ранговое место по степени активности ЭП ОРВИ заняла островная территория ДФО, то есть Сахалинская область. Показатели суммарной заболеваемости ОРВИ с 51 по 17 календарную неделю

составили в данном субъекте 1235,1 и 1271,2 случаев на 10 тысяч населения, соответственно, в сезоны 2017-2018 и 2018-2019 гг. (табл. 1). В отличие от республики Саха (Якутия), динамика и интенсивность развития ЭП ОРВИ в Сахалинской области была практически схожей в анализируемые нами временные отрезки. Эпидемический подъем недельных показателей стартовал и завершился в период обоих сезонов одновременно – с 6 по 11 календарные недели, его продолжительность составила 6 недель в каждый период наблюдения. Максимальные показатели заболеваемости пришлось на 6-7-8 недели, то есть на две трети февраля (92,3-107,0-103,9 и 93,0-123,0-113,5 случаев на 10 тысяч населения), превысив эпидемические пороги на 8,8-17,9-17,1% и на 9,6-35,5-28,3% в сезоны 2017-2018 и 2018-2019 гг., соответственно.

Анализ этиологического пейзажа возбудителей ОРВИ выявил в Сахалинской области в сезон 2017-2018 гг. существенную роль в заболеваемости ОРВИ вирусов гриппа А(Н3N2) и гриппа типа В, удельный вес которых составил, соответственно, $16,3 \pm 1,38$ и $19,9 \pm 1,49\%$ (табл. 2). При этом, вирус гриппа А(Н3N2) выявлялся на протяжении с 3 по 14 недели, а вирус гриппа В был обнаружен на две недели позже, то есть с 5 недели. Циркуляция последнего была более продолжительной – вплоть по 17 неделю включительно. Проведенный для сезона 2017-2018 гг. множественный корреляционно-регрессионный анализ выявил статистически значимую ($p=0,001405$) прямую (заметной силы связи по шкале Чеддока) зависимость показателей заболеваемости ОРВИ только от гриппа А(Н3N2), коэффициент корреляции при этом был равен $0,699$ (рис. 5). Для гриппа В аналогичная зависимость изучаемых признаков оказалась статистически незначимой ($p=0,368430$).

Иное соотношение возбудителей ОРВИ выявлено в Сахалинской области в сезон 2018-2019 гг. Так, в этиологической структуре явное лидерство занял в этот период пандемический вариант вируса гриппа А – А(Н1N1)pdm09, на долю которого пришлось $26,4 \pm 1,48\%$. По сравнению с предыдущим сезоном доля гриппа А(Н3N2) уменьшилась почти в 2,3 раза, а циркуляция гриппа В оказалась крайне незначительной (табл. 2). При проведении корреляционно-регрессионного анализа в Сахалинской области подтверждена статистически значимая ($p=0,017198$) прямая сила связи между недельными показателями заболеваемости ОРВИ и колебаниями удельного веса гриппа А(Н1N1)pdm09 в сезон 2018-2019 гг. (рис. 6).

По шкале Чеддока данная теснота связи оценена как заметная, коэффициент корреляции равен $0,572$.

Следовательно, несмотря на идентичность динамики и активности ЭП ОРВИ, отмеченную в Сахалинской области в сравниваемые периоды наблюдения, наибольший вклад в заболеваемость вносили разные вирусы гриппа: в 2017-2018 гг. – преимущественно А(Н3N2), в 2018-2019 гг. – вирус гриппа А(Н1N1)pdm09. Вирус гриппа А(Н1N1)pdm09 вызвал в Сахалинской области в 2018-2019 гг. лишь незначительный подъем заболеваемости ОРВИ по сравнению с предыдущим сезоном. Выявленный факт согласуется с мнением ряда авторов о том, что снижение с течением времени интенсивности ЭП при гриппе А(Н1N1)pdm09 связано с многолетней циркуляцией данного возбудителя, практически не изменившего своих антигенных свойств [5].

В южных регионах ДФО, охваченных данным наблюдением (Хабаровский и Приморский края, Амурская область), так же определены особенности динамики ЭП и этиология подъемов заболеваемости ОРВИ в изучаемые периоды. Наиболее высокие показатели заболеваемости ОРВИ в южной части ДФО отмечены в Хабаровском крае – $1149,0$ и $1146,3$ случаев

на 10 тысяч населения суммарно за периоды с 51 по 17 неделю в сезоны 2017-2018 и 2018-2019 гг., соответственно (табл. 1). Следовательно, Хабаровский край занял 3 порядковое место по уровням заболеваемости ОРВИ после Республики Саха (Якутия) и Сахалинской области. В Приморском крае и Амурской области аналогичные показатели были меньшими и практически сходными между собой – соответственно, $776,4$ и $751,9$ в сезон 2017-2018 гг.; $858,4$ и $777,4$ случаев на 10 тысяч населения в сезон 2018-2019 гг.

Подъемы заболеваемости с превышением эпидемических порогов наблюдались в южных регионах ДФО реже, чем в северной и островной территориях Дальнего Востока, и продолжительность таких подъемов была значительно короче (табл. 1). Так, в Хабаровском крае превышение эпидемических порогов заболеваемости ОРВИ зарегистрировано только в сезон 2018-2019 гг. – с 3 по 6 календарную недели (со второй половины января по первую декаду февраля 2019 г.), с общей продолжительностью 4 недели. Недельные показатели в этот промежуток времени варьировали от $62,2$ до $113,6$ случаев на 10 тысяч населения, превышение уровней над эпидемическими пороговыми, соответственно, составляло от $+28,7$ до $+42,4\%$, а темпы прироста заболеваемости в сравнении с предыдущими неделями – от $+13,3$ до $+61,3\%$ (за исключением 6 недели, когда зарегистрирован отрицательный темп $-1,4\%$). Максимальные показатели заболеваемости пришлось на 4, 5 и 6 неделю сезона 2018-2019 гг. Напротив, в сезон 2017-2018 гг. в Хабаровском крае максимальный подъем заболеваемости ОРВИ, не превысивший эпидемический порог, отмечен позднее – на 9 календарной неделе (в конце февраля – начале марта 2019 г.), и её уровень был меньше, составив $93,9$ случаев на 10 тысяч населения, но темп прироста по сравнению с 8 календарной неделей был достаточно существенным – $+27,1\%$.

В Амурской области и Приморском крае эпидемическое неблагополучие по ОРВИ было слабо интенсивным и продолжалось еще более короткое время – максимум 2 недели. Так, в Амурской области недельные показатели заболеваемости превысили эпидемические пороги на протяжении двух недель только в сезон 2018-2019 гг. – на 6 и 7 календарной неделях (в первой половине февраля 2019 г.). В эти сроки заболеваемость достигла пиков – соответственно, $81,1$ и $86,6$ случаев на 10 тысяч населения, незначительно превысив эпидемические пороги – на $14,3$ и $6,8\%$. Темпы прироста заболеваемости в сравнении с предыдущими неделями составили в указанный период, соответственно, $+56,9$ и $+6,8\%$. Ситуация по ОРВИ в сезон 2017-2018 гг. протекала в Амурской области относительно благополучно, максимальные показатели заболеваемости, не превысившие эпидемических порогов, были зарегистрированы на 7 и 8 неделях ($62,2$ и $67,8$ случаев на 10 тысяч населения), с темпами прироста, соответственно, $+25,2$ и $+9,0\%$.

Достаточно благополучная ситуация по ОРВИ наблюдалась на протяжении двух сезонов и в Приморском крае. Превышения уровней заболеваемости над эпидемическими порогами были эпизодическими с продолжительностью не более 1 недели, причем в 2017-2018 гг. они зарегистрированы двукратно с разницей в 2 недели – то есть на 9 и 11 неделях 2018 г. (в конце февраля – начале марта и в середине марта). Показатели заболеваемости составили, соответственно, 67,6 и 49,9 случаев на 10 тысяч населения, превысив эпидемические пороги на 46,3 и 12,6%, с темпами прироста в сравнении с предыдущими неделями +23,6 и +39,0%. В следующий сезон (2018-2019 гг.) максимум заболеваемости (75,9 случаев на 10 тысяч населения с темпом прироста +33,6%) пришелся в Приморском крае на более ранний срок – на 5 неделю 2019 г. (на конец января – начало февраля), однако заболеваемость в данный период не достигла эпидемического порога. При этом однократное и незначительное (+10,1%) превышение эпидемического порога было зарегистрировано на 2 недели раньше, то есть на 3 неделе (в середине января 2019 г.), показатель в этот период составил 41,6 случаев на 10 тысяч населения, а темп прироста по сравнению с предыдущей календарной неделей +49,6%.

Уточнение динамики ЭП ОРВИ в условиях постоянного изменения пейзажа циркулирующих вирусов показало преобладание в сезон 2017-2018 гг. удельного веса вируса гриппа В в Хабаровском крае (30,0±2,00%) и гриппа В и А(Н3N2) в Приморском крае (21,9±1,39 и 27,2±1,49%, соответственно). В сезон 2018-2019 гг. выявлено явное лидерство пандемического варианта гриппа А(Н1N1)pdm09 – 57,5±1,69 и 60,7±1,67%, соответственно, в Хабаровском и Приморском краях (табл. 2). Причем первые случаи гриппа В в сезон 2017-2018 гг. в этих регионах зарегистрированы необычно рано – с 3-4 недели 2018 г., затем данный вариант обнаруживали постоянно на протяжении последующих 13-14 недель наблюдения. Не менее существенной оказалась роль вируса гриппа А(Н3N2) в формировании заболеваемости ОРВИ в сезон 2017-2018 гг. в обоих указанных регионах, а также вируса гриппа А(Н1N1)pdm09 в Приморском крае.

Несмотря на то, что доли вирусов гриппа В, А(Н3N2) и А(Н1N1)pdm09 распределились в Приморском крае в сезон 2017-2018 гг. примерно одинаково, множественный корреляционно-регрессионный анализ выявил достоверную связь динамики показателей заболеваемости ОРВИ только с гриппом типа В (рис. 7). Коэффициент корреляции составил 0,562; связь между признаками оказалась прямой; теснота связи по шкале Чеддока оценена как заметная; зависимость признаков статистически значима ($p=0,012899$).

В соответствии с аналогичным статистическим анализом для Хабаровского края, так же, как и для Приморья, в сезон 2017-2018 гг. подтвержден наибольший

вклад вируса гриппа В в заболеваемость ОРВИ: коэффициент корреляции составил 0,739; связь между признаками оказалась прямой; теснота связи по шкале Чеддока оценена как высокая; зависимость признаков статистически значима ($p=0,000351$).

Кроме этого, множественный корреляционно-регрессионный анализ показал статистически значимую, прямую зависимость заболеваемости ОРВИ с гриппом А(Н1N1)pdm09 в этих двух южных регионах ДФО в сезон 2018-2019 гг. (рис. 8).

Весьма интересной оказалась этиологическая структура возбудителей ОРВИ в Амурской области. Доли вирусов гриппа в оба сезона наблюдения оказались минимальными по сравнению с другими регионами ДФО – 2,3±0,64% в 2017-2018 гг. и 16,6±1,22% в 2018-2019 г. (табл. 2). Для сезона 2017-2018 гг. отмечено практическое отсутствие регистрации гриппа в Амурской области (за весь анализируемый период лабораторно подтверждено всего 13 случаев гриппа, 2 из которых отнесены к типу А(Н3N2) и 11 – к типу В). Рост активности вирусов гриппа в следующий период наблюдения (2018-2019 гг.) произошел в Амурской области за счет преимущественной циркуляции вируса гриппа А(Н1N1)pdm09, на долю которого пришлось 11,4±1,04% среди всей популяции лабораторно идентифицированных возбудителей ОРВИ.

Эпидемический процесс ОРВИ в Амурской области в оба периода наблюдения определяли вирусы негриппозной этиологии, причём в сезон 2017-2018 гг. – преимущественно адено-, риновирусы и прочие вирусы, в сезон 2018-2019 гг. – большей частью РС- и аденовирусы (табл. 2).

При этом если в сезон 2017-2018 гг. для риновирусной инфекции и прочих редко встречаемых вирусов (бока-, метапневмовирусов, сезонных коронавирусов) в Амурской области выявлена прямая, умеренной силы, статистически значимая корреляция ($r=0,497$, $p=0,031173$) с показателями недельной заболеваемости ОРВИ, то для аденовирусов связь их удельного веса с показателями заболеваемости ОРВИ оказалась обратной, заметной силы ($r=-0,540$, зависимость признаков статистически значима, $p=0,017585$). Следовательно, выявленная в Амурской области в сезон 2017-2018 гг. обратная тенденция указывала на наибольшую регистрацию лабораторно подтвержденных случаев аденовирусной инфекции при более низких значениях суммарной заболеваемости населения ОРВИ.

Как ни парадоксально, но в сезон 2018-2019 гг. статистически значимый вклад в заболеваемость ОРВИ в Амурской области внесли всё же не РС- и аденовирусы (как это показано в табл. 2), а возбудители, имевшие незначительные доли в этиологической структуре – вирусы парагриппа и гриппа А(Н1N1)pdm09, удельный вес которых составил, соответственно, 8,6±0,92 и 11,4±1,04% (рис. 9).

Таблица 2

Удельный вес вирусов гриппа и других вирусов негриппозной этиологии в эпидемические сезоны ОРВИ
2017-2018 и 2018-2019 гг. (в процентах от числа лабораторно обследованных лиц)

Территория Российской Федерации	Наименование вирусов	Удельный вес (%) вирусов		Уровень значимости (p) различий удельного веса
		В сезон 2017-2018 гг. (P±pm)	В сезон 2018-2019 гг. (P±pm)	
Сахалинская область	Гриппа, в т.ч.:	37,1±1,80	36,6±1,61	p=0,836004
	A/H1N1/2009	0,9±0,35	26,4±1,48	p=0,000000*
	A/H1N1 (сезонный)	0	3,0±0,57	p=0,000000*
	A/H3N2	16,3±1,38	7,0±0,85	p=0,000000*
	Грипп типа В	19,9±1,49	0,2±0,15	p=0,000000*
	Другие вирусы, в т.ч.:	62,9±1,80	63,4±1,61	p=0,836004
	Вирусы парагриппа	6,5±0,92	16,3±1,24	p=0,000000*
	Аденовирусы	9,3±1,08	4,9±0,72	p=0,000716*
	РС-вирусы	26,1±1,64	14,7±1,19	p=0,000000*
	Рино- и проч. вирусы^	21,0±1,52	27,5±1,50	p=0,002374*
Хабаровский край	Гриппа, в т.ч.:	45,6±2,17	61,4±1,67	p=0,000000*
	A/H1N1/2009	2,3±0,65	57,5±1,69	p=0,000000*
	A/H1N1 (сезонный)	0,2±0,19	0	p=0,292695
	A/H3N2	13,1±1,47	3,9±0,66	p=0,000000*
	Грипп типа В	30,0±2,00	0	p=0,000000*
	Другие вирусы, в т.ч.:	54,4±2,17	38,6±1,67	p=0,000000*
	Вирусы парагриппа	4,8±0,93	5,1±0,75	p=0,801773
	Аденовирусы	6,5±1,07	2,1±0,49	p=0,000193*
	РС-вирусы	11,4±1,97	8,9±0,98	p=0,256066
	Рино- и проч. вирусы^	31,7±2,03	22,5±1,43	p=0,000220*
Амурская область	Гриппа, в т.ч.:	2,3±0,64	16,6±1,22	p=0,000000*
	A/H1N1/2009	0	11,4±1,04	p=0,000000*
	A/H1N1 (сезонный)	0	4,7±0,69	p=0,000000*
	A/H3N2	0,3±0,23	0,5±0,23	p=0,538732
	Грипп типа В	2,0±0,59	0	p=0,000718*
	Другие вирусы, в т.ч.:	97,7±0,64	83,4±1,22	p=0,000000*
	Вирусы парагриппа	10,3±1,29	8,6±0,92	p=0,283480
	Аденовирусы	30,1±1,95	25,1±1,42	p=0,038367*
	РС-вирусы	24,3±1,82	28,4±1,48	p=0,080706
	Рино- и проч. вирусы^	33,0±2,00	21,3±1,34	p=0,000001*
Приморский край	Гриппа, в т.ч.:	72,7±1,50	73,6±1,51	p=0,672455
	A/H1N1/2009	23,6±1,43	60,7±1,67	p=0,000000*
	A/H1N1 (сезонный)	0	0,2±0,15	p=0,182597
	A/H3N2	27,2±1,49	12,1±1,11	p=0,000000*
	Грипп типа В	21,9±1,39	0,6±0,26	p=0,000000*
	Другие вирусы, в т.ч.:	27,3±1,50	26,4±1,51	p=0,672455
	Вирусы парагриппа	3,3±0,60	2,6±0,54	p=0,385965
	Аденовирусы	1,7±0,43	1,7±0,44	p=1,000000
	РС-вирусы	9,2±0,97	4,8±0,73	p=0,000298*
	Рино- и проч. вирусы^	13,1±1,13	17,3±1,29	p=0,014420*
Республика Саха (Якутия)	Гриппа, в т.ч.:	17,9±1,42	33,9±1,15	p=0,000000*
	A/H1N1/2009	1,0±0,37	20,4±0,98	p=0,000000*
	A/H1N1 (сезонный)	2,5±0,58	0,3±0,13	p=0,000219*
	A/H3N2	13,7±1,27	8,3±0,67	p=0,000173*
	Грипп типа В	0,7±0,31	4,9±0,53	p=0,000000*
	Другие вирусы, в т.ч.:	82,1±1,42	66,1±1,15	p=0,000000*
	Вирусы парагриппа	22,2±1,54	47,8±1,22	p=0,000000*
	Аденовирусы	15,7±1,35	13,0±0,82	p=0,087511
	РС-вирусы	23,6±1,57	3,4±0,44	p=0,000000*
	Рино- и проч. вирусы^	20,6±1,50	1,9±0,33	p=0,000000*

Примечание: ^ – бока-, корона- и метапневмовирусы; * – статистически значимые различия.

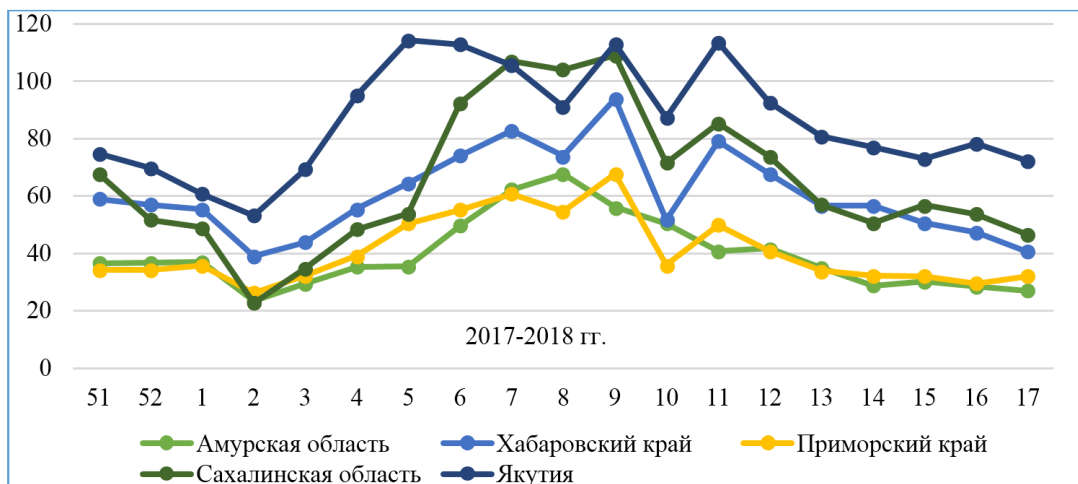


Рис. 1. Динамика недельной заболеваемости ОРВИ в 2017-2018 гг.

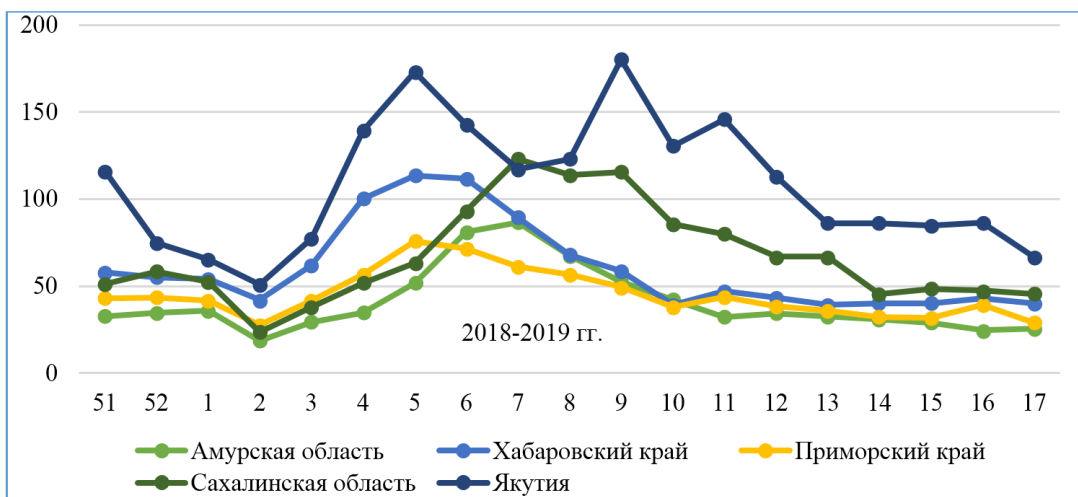


Рис. 2. Динамика недельной заболеваемости ОРВИ в 2018-2019 гг.

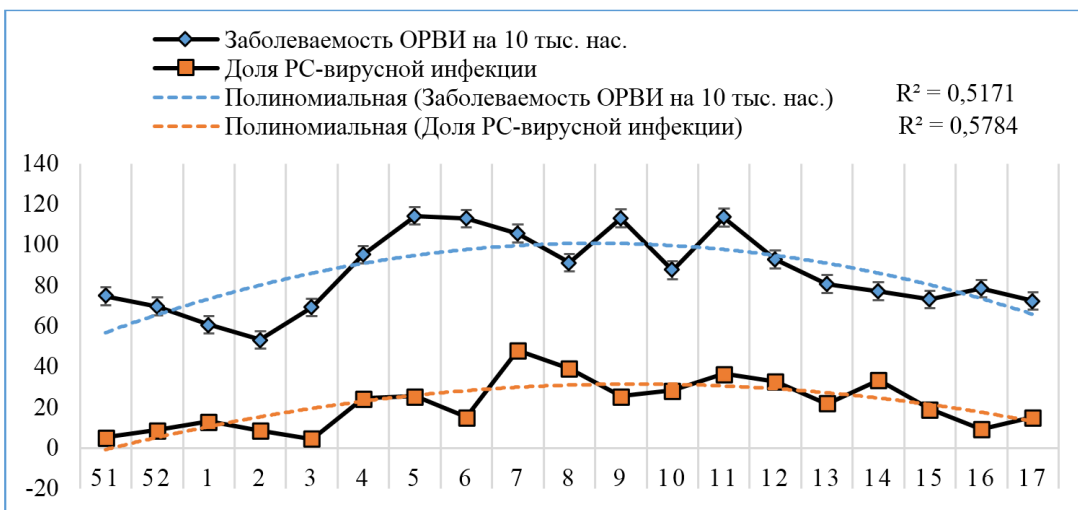


Рис. 3. Сопоставительный анализ показателей заболеваемости ОРВИ и удельного веса РС-вирусов в Республике Саха (Якутия) в сезон 2017-2018 гг.

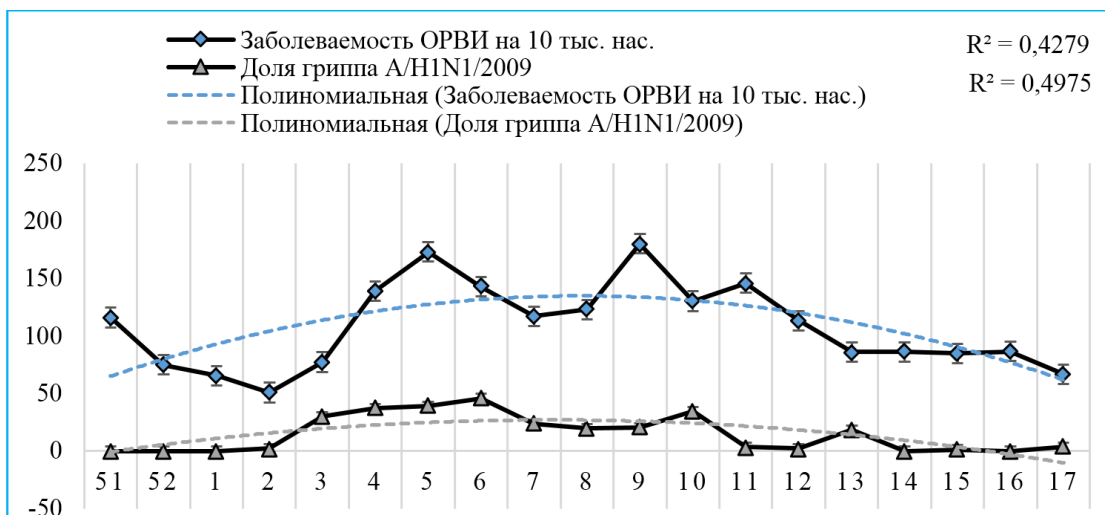


Рис. 4. Сопоставительный анализ показателей заболеваемости ОРВИ и удельного веса гриппа А(Н1N1)pdm09 в Республике Саха (Якутия) в сезон 2018-2019 гг.

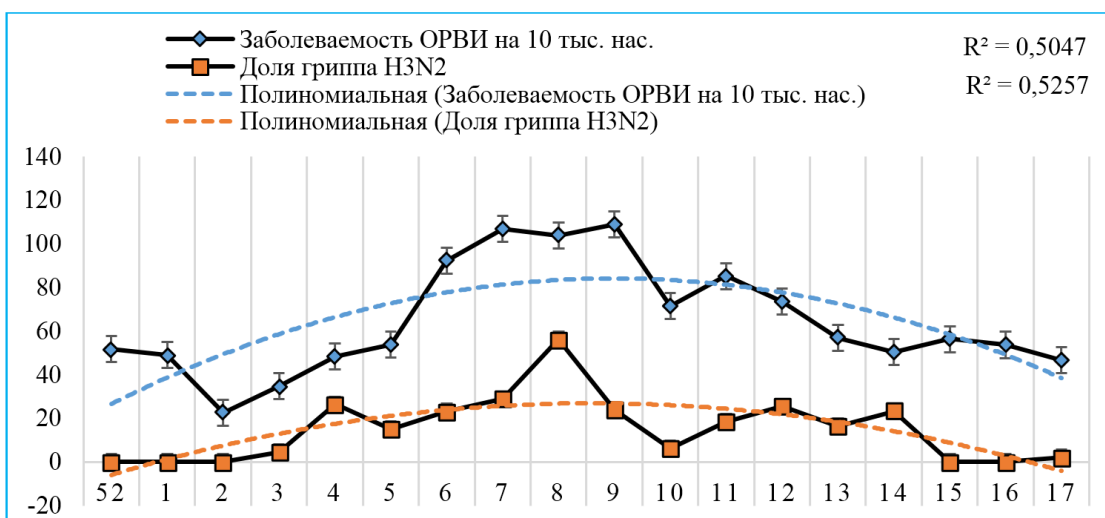


Рис. 5. Сопоставительный анализ показателей заболеваемости ОРВИ и удельного веса вирусов гриппа А(Н3N2) в Сахалинской области в сезон 2017-2018 гг.

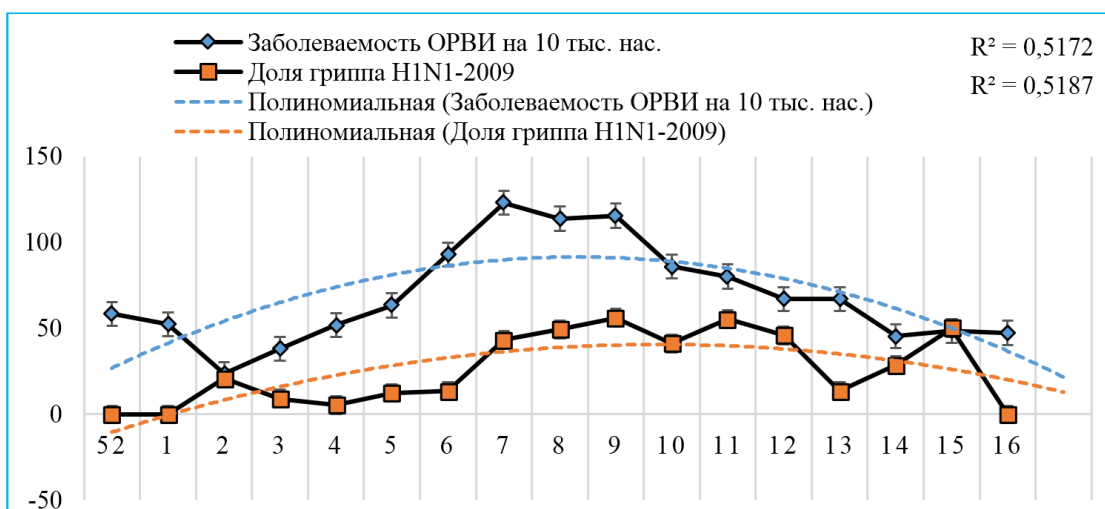


Рис. 6. Сопоставительный анализ показателей заболеваемости ОРВИ и удельного веса вирусов гриппа А(Н1N1)pdm09 в Сахалинской области в сезон 2018-2019 гг.

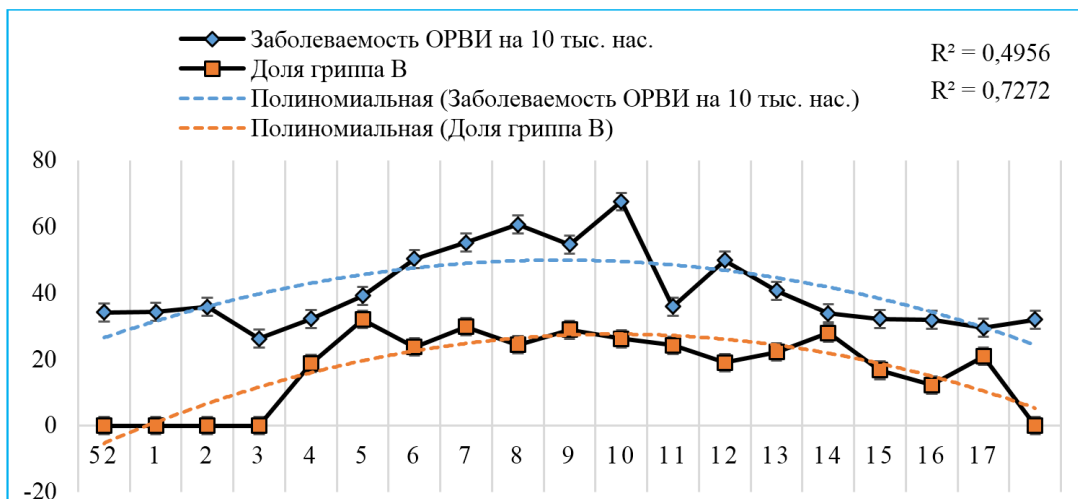


Рис. 7. Сопоставительный анализ показателей заболеваемости ОРВИ и удельного веса вирусов гриппа В в Приморском крае в сезон 2017-2018 гг.

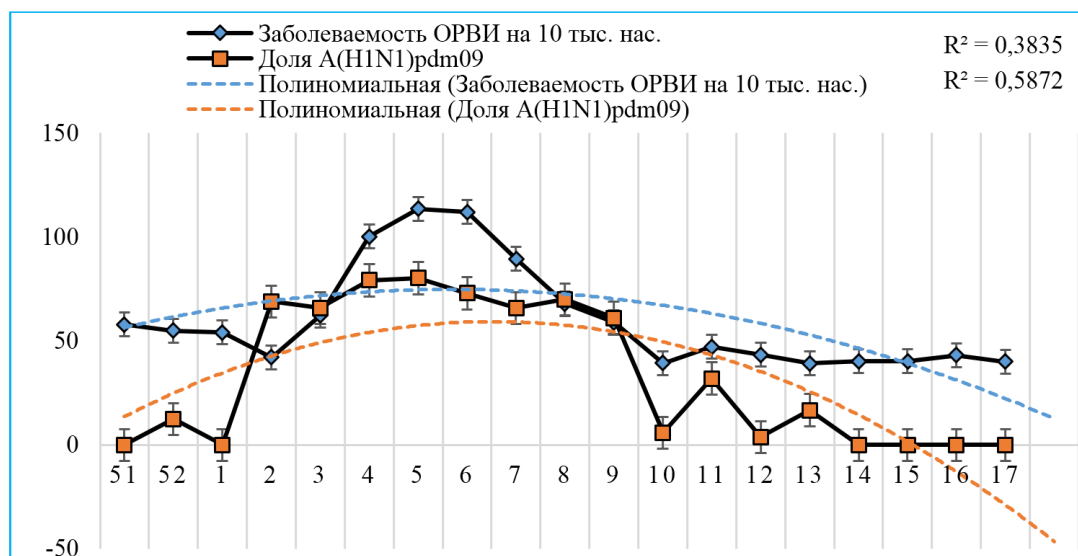


Рис. 8. Сопоставительный анализ показателей заболеваемости ОРВИ и удельного веса вирусов гриппа А(Н1N1)рdm09 в Хабаровском крае в сезон 2018-2019 гг.

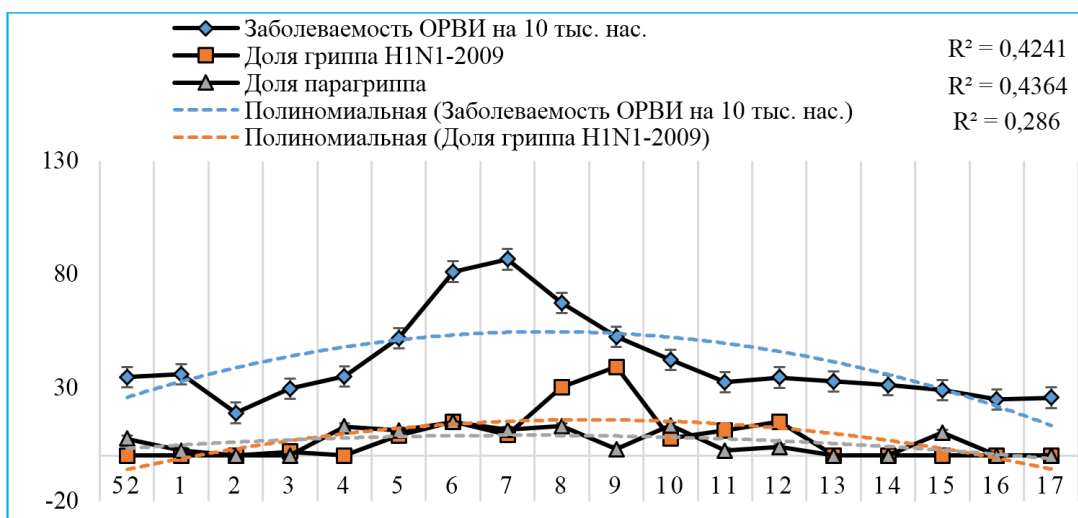


Рис. 9. Сопоставительный анализ показателей заболеваемости ОРВИ и удельного веса вирусов гриппа А(Н1N1)рdm09 и парагриппа в Амурской области в сезон 2018-2019 гг.

Связь между указанными признаками в обоих случаях оказалась прямой, заметной силы и статистически значимой (коэффициенты корреляции составили 0,564 при $p=0,015444$ и 0,685 при $p=0,001884$, соответственно, для гриппа А(Н1N1)pdm09 и парагриппа). Следовательно, в Амурской области в анализируемый сезон 2018-2019 гг. наибольшие показатели заболеваемости ОРВИ коррелировали с более высокими долями вирусов гриппа А(Н1N1)pdm09 и парагриппа.

Таким образом, в результате исследования, проведенного на пяти анализируемых территориях ДФО, выявлен ряд как общих, так и отличительных эпидемиологических признаков заболеваемости ОРВИ в период с 51 по 17 календарную неделю на протяжении двух сезонов наблюдения.

К общим проявлениям ЭП ОРВИ можно отнести идентичность динамики его развития во всех регионах в период с 51 по 17 календарную неделю на протяжении двух сезонов заболеваемости 2017-2018 и 2018-2019 гг.: период нарастания активности ЭП, характеризующийся постепенным увеличением количества больных, зарегистрирован с 3 по 5-7 календарные недели; период разгара ЭП с волнообразным выявлением максимального количества больных ОРВИ и дальнейшим постепенным снижением показателей заболеваемости – с 5-7 по 11 неделю; период угасания ЭП – с 12 по 14 недели.

Выявленная тождественность направленности эпидемической тенденции во всех пяти рассматриваемых субъектах ДФО отражает действие общеизвестных факторов, влияющих на ЭП ОРВИ. К таковым относятся динамичное изменение климатических условий; ограничение контактов населения во время новогодних каникул и усиление активности контактов по возвращении в организованные коллективы; изменчивость популяции возбудителей ОРВИ с течением времени, в частности, значительное увеличение долевого участия в этиологической структуре ОРВИ вирусов гриппа в зимний и ранний весенний периоды с постепенным снижением вирулентности данного возбудителя к концу апреля; достаточно высокий в последние годы уровень охвата вакцинацией населения России против гриппа, определяющий соответствующую степень невосприимчивости к нему и сдерживающий интенсивность ЭП при гриппе [4, 5, 11, 12].

Общей для охваченных наблюдением субъектов ДФО эпидемиологической характеристикой является установленная статистическими методами корреляционная связь подъемов заболеваемости ОРВИ с определенными этиологическими агентами. Более того, для всех изучаемых территорий ДФО в сезон 2018-2019 гг. выявлена статистически значимая корреляция заболеваемости ОРВИ с циркуляцией пандемического варианта гриппа А(Н1N1)pdm09, что содействовало большей интенсивности ЭП ОРВИ в ряде регионов.

Характерным для всех пяти субъектов ДФО явлением стало резкое снижение активности циркуляции

вирусов гриппа А(Н3N2) и гриппа В в сезон 2018-2019 гг. по сравнению с 2017-2018 гг. Следует отметить, что соотношение долей вирусов гриппа в ДФО отличалось от такового, отмеченного в целом по России. Так, по данным литературы, в России и странах Северного полушария этиологию эпидемических подъемов заболеваемости ОРВИ в 2018-2019 гг. в большей степени определяли вирусы гриппа А(Н1N1)pdm09 и А(Н3N2), на их долю пришлось 53,0 и 46,0%, соответственно [1] В то же время активность вируса гриппа В была низкой повсеместно, включая и территории российского Дальнего Востока.

Эпидемиологическим признаком ЭП ОРВИ, отличающим охваченные наблюдением регионы ДФО, оказалась различная степень выраженности эпидемической тенденции по территориям и по сезонам наблюдения.

Для Республики Саха (Якутия) – региона с суровыми климатическими условиями, характерны самые высокие в ДФО показатели заболеваемости ОРВИ и наибольшая продолжительность эпидемического неблагополучия, данные проявления ЭП были весьма активны в сезон 2018-2019 гг.

Значительная, но практически одинаковая степень выраженности проявлений ЭП ОРВИ в изучаемые сезоны оказалась свойственной для отдаленной от материковой части Сахалинской области. Однако интенсивность эпидемии, оцениваемая по уровням заболеваемости и по продолжительности эпидемических подъемов, в оба сезона наблюдения была в Сахалинской области меньше, чем в Якутии.

Южные территории ДФО (Хабаровский, Приморский края и Амурская область) на протяжении двух сезонов наблюдения выделялись меньшей активностью ЭП ОРВИ с более низкими показателями заболеваемости, эпизодически незначительно превышающими эпидемические пороги.

На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что на формирование региональных особенностей ЭП ОРВИ оказали влияние не только степень контагиозности возбудителей, уровень санитарно-противоэпидемических мероприятий, степень восприимчивости к инфекциям, состояние санитарной культуры населения, особенно соблюдаемой в организованных коллективах, но и климатогеографические условия проживания населения, а также преимущественная этиологическая обусловленность заболеваний.

В распределении вирусов гриппа и других вирусов негриппозной этиологии в общей структуре лабораторно подтвержденных случаев ОРВИ отмечена выраженная территориальная и временная неравномерность. На протяжении сезона 2017-2018 гг. наиболее статистически значимый вклад в заболеваемость ОРВИ внесли вирусы гриппа В в Приморском и Хабаровском краях; вирусы гриппа А(Н3N2) – в Сахалинской области; респираторно-синцитиальные ви-

русы – в Республике Саха (Якутия); риновирусы, а также прочие вирусы (бока-, корона-, метапневмовирусы) – в Амурской области. В сезон 2018-2019 гг. подъемы заболеваемости ОРВИ на всех изучаемых территориях ДФО были обусловлены в основном вирусами гриппа А(Н1N1)pdm09, причем в Амурской области, наряду с пандемическим вариантом гриппа А, вклад в заболеваемость привнесли вирусы парагриппа.

Следует отметить, что в ходе исследования в Амурской области выявлена уникальная своеобразность циркуляции возбудителей ОРВИ, проявившаяся преимущественным влиянием на ЭП ОРВИ вирусов негриппозной этиологии. Крайне редким выявлением наиболее агрессивных возбудителей ОРВИ – вирусов гриппа, особенно в сезон 2017-2018 гг., можно объяснить относительное благополучие по заболеваемости ОРВИ, наблюдаемое в данном регионе.

Продемонстрированные результаты свидетель-

ствуют о необходимости постоянного изучения эпидемического процесса ОРВИ в каждом регионе РФ в условиях непрерывно изменяющегося пейзажа циркулирующих вирусов. Анализ связи динамики развития эпидемий ОРВИ и циркуляции данных возбудителей будет полезен для определения стратегии и тактики противоэпидемических мероприятий.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Источники финансирования

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

1. Львов Д.К., Бурцева Е.И., Мукашева Е.А., Колобухина Л.В., Богданова В.С., Бовин Н.В., Феодоритова Е.Л., Трушакова С.В., Бреслав Н.В., Кириллов И.М., Меркулова Л.Н., Федякина И.Т., Краснослободцев К.Г., Воронина О.Л., Аксенова Е.И., Кунда М.С., Рыжова Н.Н., Альховский С.В., Вартамян Р.В., Кистенева Л.Б., Росаткевич А.Г., Кружкова И.С., Базарова М.В., Сметанина С.В. Особенности циркуляции и свойства вирусов гриппа в эпидемическом сезоне 2018-2019 гг. в России и странах Северного полушария // Проблемы особо опасных инфекций. 2019. № 3. С.66–74. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2019-3-66-74>
2. Карпова Л.С., Волик К.М., Столяров К.А., Поповцева Н.М., Столярова Т.П., Соминина А.А., Бурцева Е.И. Особенности эпидемического процесса при гриппе А(Н1N1)PDM09 и А(Н3N2) в России с 2009 по 2017 г. // Вопросы вирусологии. 2018. Т.63, №4. С.177–184. <https://doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-4-177-184>
3. Беляков В.Д., Яфаев Р.Х. Эпидемиология: учебник. М.: Медицина, 1989. 416 с. ISBN 5-225-01513-1
4. Белов А.Б., Куликов П.В. Решенные и проблемные вопросы эпидемиологии гриппа через сто лет после пандемии «испанки». Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2019. Т.18, №5. С.109–120. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-5-109-120>
5. Карпова Л.С., Волик К.М., Смородинцева Е.А., Столярова Т.П., Поповцева Н.М., Столяров К.А. Влияние гриппа различной этиологии на другие ОРВИ у детей и взрослых в 2014-2016 годах // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2018. Т.17, №6. С.35–47. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2018-17-35-47>
6. Писарева М.М., Едер В.А., Бузицкая Ж.В., Мусаева Т.Д., Афанасьева В.С., Го А.А., Образцова Е.А., Суховецкая В.Ф., Комиссаров А.Б. Этиологическая структура гриппа и других ОРВИ в Санкт-Петербурге в эпидемические сезоны 2012-2016 гг. // Вопросы вирусологии. 2018. Т.63, №5. С.233–239. <https://doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-5-233-239>
7. Манаков Л.Г., Колосов В.П. Динамика и региональные градиенты заболеваемости населения болезнями органов дыхания на территории Дальневосточного федерального округа // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2018. Вып.69. С.8–18. https://doi.org/10.12737/article_5b9600fc7d8ed9.21787502
8. Богачевская С.А. Дифференциация субъектов Российской Федерации Дальневосточного федерального округа (на основе многофакторного кластерного анализа климатогеографических, социально-экономических, демографических и медико-эпидемиологических показателей) // Социальные аспекты здоровья населения: электронный научный журнал. 2017. Т.58, №6. doi: 10.21045/2071-5021-2017-58-6-4
9. Vega T., Lozano J.E., Meerhoff T., Snacken R., Beauté J., Jorgensen P., Ortiz de Lejarazu R., Domégan L., Mossong J., Nielsen J., Born R., Larrauri A., Brown C. Influenza surveillance in Europe: comparing intensity levels calculated using the moving epidemic method // Influenza Other Respir. Viruses. 2015. Vol.9, №5. С.234–246. doi: 10.1111/irv.12330
10. Гланц С. Медико-биологическая статистика: пер. с англ. М.: Практика, 1999. 459 с. ISBN 5-89816-009-4
11. Брико Н.И. 100 лет пандемии: уроки истории. Новый этап вакцинопрофилактики // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2018. Т.17, №4. С.68–83. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2018-17-4>
12. Гендон Ю.З. Свиной грипп Н1N1/Калифорния – страсти и факты // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2010. №4. С.105–114.

REFERENCES

1. Lvov D.K., Burtseva E.I., Mukasheva E.A., Kolobukhina L.V., Bogdanova V.S., Bovin N.V., Feodoritova E.L., Trushakova S.V., Breslav N.V., Kirillov I.M., Merkulova L.N., Fedyakina I.T., Krasnoslobodtsev K.G., Voronina O.L., Akseynova E.I., Kunda M.S., Ryzhova N.N., Alkhovsky S.V., Vartanyan R.V., Kisteneva L.B., Rosatkevich A.G., Kruzhkova I.S., Bazarova M.V., Smetanina S.V. Peculiarities of the influenza viruses circulation and their properties during 2018-2019 epidemic season in Russia and countries of the Northern Hemisphere. *Problems of Particularly Dangerous Infections* 2019; (3):66–74 (in Russian). <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2019-3-66-74>
2. Karpova L.S., Volik K.M., Stolyarov K.A., Popovtseva N.M., Stolyarova T.P., Somnina A.A., Burtseva E.I. Features of epidemic process of influenza A(H1N1)pdm09 AND A(H3N2) in Russia from 2009 to 2017. *Problems of Virology* 2018; 63(4):177–184 (in Russian). <https://doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-4-177-184>
3. Belyakov V.D., Jafaev R.Kh. Epidemiology. Moscow: Meditsina; 1989 (in Russian). ISBN 5-225-01513-1
4. Belov A.B., Kulikov P.V. Solved and Problematic Issues of Influenza epidemiology one hundred years after Spanish Flu Pandemic. *Epidemiology and Vaccinal Prevention* 2019; 18(5):109–120 (in Russian). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-5-109-120>
5. Karpova L.S., Volik K.M., Smorodintseva E.A., Stolyarova T.P., Popovtseva N.M., Stolyarov K.A. The Impact of Influenza of Different Etiologies on other ARVI in Children and Adults in 2014 to 2016. *Epidemiology and Vaccinal Prevention* 2018;17(6):35–47 (in Russian). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2018-17-35-47>
6. Pisareva M.M., Eder V.A., Buzitskaya Z.V., Musaeva T.D., Afanaseva V.S., Go A.A., Obratsova E.A., Sukhovetskaya V.F., Komissarov A.B. Etiological structure of influenza and other ARVI in St. Petersburg during epidemic seasons 2012-2016. *Problems of Virology* 2018; 63(5):233–239 (in Russian). <https://doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-5-233-239>
7. Manakov L.G., Kolosov V.P. Dynamics and regional gradients of respiratory disease morbidity of population in the Far Eastern federal district. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2018; 69:8–18 (in Russian). https://doi.org/10.12737/article_5b9600fc7d8ed9.21787502
8. Bogachevskaya S.A. Differentiating subjects of the Far East federal district (based on a multifactorial cluster analysis of climatic, geographic, socio-economic, demographic, medical and epidemiological indicators). *Social Aspects of Population Health* 2017; 58(6):4 (in Russian). doi: 10.21045/2071-5021-2017-58-6-4
9. Vega T., Lozano J.E., Meerhoff T., Snacken R., Beauté J., Jorgensen P., Ortiz de Lejarazu R., Domegan L., Mossong J., Nielsen J., Born R., Larrauri A., Brown C. Influenza surveillance in Europe: comparing intensity levels calculated using the moving epidemic method. *Influenza Other Respir. Viruses* 2015; 9(5):234–246. doi: 10.1111/irv.12330
10. Glantz S.A. Primer of Biostatistics. Moscow: Praktika; 1999 (in Russian). ISBN 5-89816-009-4
11. Briko N.I. 100 Years after the Spanish Flu Pandemic. The Evolution of the Influenza Virus and the Development of the Flu Vaccine. *Epidemiology and Vaccinal Prevention* 2018; 17(4):68–75 (in Russian). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2018-17-4>
12. Gendon Yu. Z. H1N1/California – terror and facts. *Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii* 2010; (4):105–114 (in Russian).

Информация об авторах:

Ольга Евгеньевна Троценко, д-р мед. наук, директор Федерального бюджетного учреждения науки «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; e-mail: trotsenko_oe@hniiem.ru

Татьяна Васильевна Корита, канд. мед. наук, ученый секретарь, Федеральное бюджетное учреждение науки «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; e-mail: adm@hniiem.ru

Елена Анатольевна Базыкина, младший научный сотрудник, лаборатория эпидемиологии и профилактики вирусных гепатитов и СПИД, Федеральное бюджетное учреждение науки «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; e-mail: alyonaf@yandex.ru

Author information:

Olga E. Trotsenko, MD, PhD, D.Sc. (Med.), Director of Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing; e-mail: trotsenko_oe@hniiem.ru

Tatyana V. Korita, MD, PhD (Med.), Scientific Secretary of Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing; e-mail: adm@hniiem.ru

Elena A. Bazykina, Junior Staff Scientist, Laboratory of Epidemiology and Prevention of Viral Hepatitis and AIDS, Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing; e-mail: alyonaf@yandex.ru

Ольга Петровна Курганова, канд. мед. наук, руководитель Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия населения по Амурской области; e-mail: info@rospotrebnadzor-amur.ru

Olga P. Kurganova, MD, PhD (Med.), Head of the Amur Oblast Regional Office of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing; e-mail: info@rospotrebnadzor-amur.ru

Татьяна Анатольевна Зайцева, руководитель Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Хабаровскому краю; e-mail: root@sanepid.khv.ru

Tatyana A. Zaitseva, MD, Head of the Khabarovsk Krai Regional Office of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing; e-mail: root@sanepid.khv.ru

Мargarита Егоровна Игнатъева, канд. мед. наук, руководитель Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Республике Саха (Якутия); e-mail: yakutia@14.rospotrebnadzor.ru

Margarita E. Ignatyeva, MD, PhD (Med.), Head of the Republic Sakha (Yakutia) Regional Office of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing; e-mail: yakutia@14.rospotrebnadzor.ru

Татьяна Николаевна Детковская, руководитель Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Приморскому краю; e-mail: Detkovskaya_TN@pkprn.ru

Tatyana N. Detkovskaya, MD, Head of the Primorsky Krai Regional Office of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing; e-mail: Detkovskaya_TN@pkprn.ru

Ольга Алексеевна Фунтусова, руководитель Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Сахалинской области; e-mail: 65.rospotrebnadzor.ru

Olga A. Funtusova, MD, Head of the Sakhalin Oblast Regional Office of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing; e-mail: 65.rospotrebnadzor.ru

Елена Юрьевна Сапега, канд. мед. наук, руководитель Дальневосточного регионального научно-методического центра по изучению энтеровирусных инфекций, Федеральное бюджетное учреждение науки «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; e-mail: adm@hniiem.ru

Elena Yu. Sapega, MD, PhD (Med.), Head of Far Eastern Regional Research-Guidance Center on Enterovirus Infections of the Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing; e-mail: adm@hniiem.ru

Людмила Васильевна Бутакова, научный сотрудник Дальневосточного регионального научно-методического центра по изучению энтеровирусных инфекций, Федеральное бюджетное учреждение науки «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; e-mail: adm@hniiem.ru

Ludmila V. Butakova, Staff Scientist of Far Eastern Regional Research-Guidance Center on Enterovirus Infections of the Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing; e-mail: adm@hniiem.ru

*Поступила 09.09.2020
Принята к печати 23.09.2020*

*Received September 09, 2020
Accepted September 23, 2020*

УДК (616.24-008.811.6-036.12+616.98):616.155.35]616-07

DOI: 10.36604/1998-5029-2020-78-23-30

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ И КОРРЕКЦИИ ПНЕВМОЦИСТНОЙ ИНФЕКЦИИ НА КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

Д.Ю.Костенко, И.В.Зайкова-Хелимская

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 680000, г. Хабаровск, ул. Муравьева-Амурского, 35

РЕЗЮМЕ. Введение. Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – актуальная проблема современной медицины из-за появления обострений и неизбежного прогрессирования, однако известные на сегодняшний день клинические факторы не могут полностью объяснить течение болезни. **Цель.** Оценить связь между наличием пневмоцистной инфекции и клинической характеристикой ХОБЛ, а также влияние коррекции активности пневмоцистной инфекции на течение ХОБЛ. **Материалы и методы.** Обследовано 90 пациентов с ХОБЛ II, III и IV степенью тяжести заболевания. На фоне стандартной терапии обострения ХОБЛ и терапии комбинацией триметоприм/сульфаметоксазол проводились лабораторные и функциональные методы исследования, оценивалось течение ХОБЛ валидизированными опросниками (САТ-тест, mMRC), определялись титры IgM и IgG к пневмоцисте в сыворотке крови, отслеживалось количество обострений ХОБЛ в течение года. **Результаты.** Маркеры активной пневмоцистной инфекции были выявлены у 62,2% пациентов. Наличие пневмоцистной инфекции при обострении ХОБЛ статистически достоверно увеличивало частоту обострений ХОБЛ ($2,68 \pm 0,08$ vs $2,45 \pm 0,15$; $p < 0,05$). Пневмоцистная инфекция статистически достоверно чаще ($p < 0,05$) встречалась у лиц с ХОБЛ II степени тяжести. В группе с пневмоцистной инфекцией наблюдалось достоверно большее количество эозинофилов, чем в группе без пневмоцистной инфекции в обострении ХОБЛ ($360,46 \pm 15,39$ vs $277,82 \pm 13,63$ кл/мкл; $p < 0,01$) и ремиссии ($398,87 \pm 19,49$ vs $324,21 \pm 26,68$ кл/мкл; $p < 0,05$). После терапии триметоприм/сульфаметоксазол отмечалось исчезновение IgM к пневмоцисте и снижение титра IgG, достоверное снижение уровня лейкоцитов крови ($6,08 \pm 0,13$ vs $6,91 \pm 0,19 \times 10^9/л$; $p < 0,01$), улучшение значений ОФВ₁ ($63,59 \pm 1,30$ vs $61,06 \pm 1,29\%$ долж.; $p < 0,01$) и ОФВ₁/ФЖЕЛ ($54,53 \pm 1,0$ vs $52,29 \pm 1,03\%$; $p < 0,01$). Также наблюдалось достоверное снижение активности ХОБЛ по данным САТ-теста, mMRC и уменьшение количества обострений в течение года. **Заключение.** Наличие активной пневмоцистной инфекции при ХОБЛ сопряжено с большим количеством эозинофилов в крови и повышенным риском частых обострений ХОБЛ. Терапия пневмоцистной инфекции при ХОБЛ комбинацией триметоприм/сульфаметоксазол приводит к достоверному улучшению клинико-лабораторных показателей и снижению частоты обострений заболевания в течение следующего года.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, пневмоцистная инфекция, обострения хронической обструктивной болезни легких, эозинофилия.

EVALUATION OF THE INFLUENCE AND CORRECTION OF PNEUMOCYSTIS INFECTION ON CLINICAL AND LABORATORY CHARACTERISTICS OF CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

D.Y.Kostenko, I.V.Zaikova-Khelimskaia

Far Eastern State Medical University, 35 Muravyov-Amursky Str., Khabarovsk, 680000, Russian Federation

Контактная информация

Дмитрий Юрьевич Костенко, аспирант кафедры госпитальной терапии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 680000, Россия, г. Хабаровск, ул. Муравьева-Амурского, 35. E-mail: mitiacostencko@yandex.ru

Correspondence should be addressed to

Dmitry Y. Kostenko, Postgraduate Student of Department of Hospital Therapy, Far Eastern State Medical University, 35 Muravyov-Amursky Str., Khabarovsk, 680000, Russian Federation. E-mail: mitiacostencko@yandex.ru

Для цитирования:

Костенко Д.Ю., Зайкова-Хелимская И.В. Оценка влияния и коррекции пневмоцистной инфекции на клинико-лабораторные характеристики хронической обструктивной болезни легких // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2020. Вып.78. С.23–30. DOI: 10.36604/1998-5029-2020-78-23-30

For citation:

Kostenko D.Y., Zaikova-Khelimskaia I.V. Evaluation of the influence and correction of pneumocystis infection on clinical and laboratory characteristics of chronic obstructive pulmonary disease. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* = *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2020; (78):23–30 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2020-78-23-30

SUMMARY. Introduction. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is an actual problem of modern medicine due to the appearance of exacerbations and inevitable progression, but currently known clinical factors cannot fully explain the course of the disease. **Aim.** To assess the relationship between the presence of Pneumocystis (PC) infection and the clinical characteristics of COPD, as well as the effect of correcting the activity of PC on the course of COPD. **Materials and methods.** 90 patients with COPD of II, III, IV degrees of severity were examined. Against the background of standard therapy for COPD exacerbation and therapy with trimethoprim/sulfamethoxazole, laboratory and functional research methods were performed, the current of COPD was evaluated by validated questionnaires (CAT, mMRC), the titer of IgM and IgG antibodies to PC in the blood serum was determined, and the number of COPD exacerbations was tracked throughout the year. **Results.** Markers of active PC infection were detected in 62.2% of patients. PC infection with COPD exacerbation significantly increased the frequency of COPD exacerbations (2.68 ± 0.08 vs. 2.45 ± 0.15 ; $p < 0.05$). PC infection was statistically ($p < 0.05$) more common in individuals with grade II COPD. In the group with PC infection, a significantly higher number of eosinophils was observed than in the group without PC infection in COPD exacerbation of 360.46 ± 15.39 vs. 277.82 ± 13.63 cells/ μ L ($p < 0.01$) and remission of 398.87 ± 19.49 vs. 324.21 ± 26.68 cells/ μ L ($p < 0.05$). After treatment with trimethoprim /sulfamethoxazole, there was a disappearance of IgM to PC and a decrease in IgG titer, a significant decrease in the level of blood leukocytes (6.08 ± 0.13 vs. $6.91 \pm 0.19 \times 10^9/L$; $p < 0.01$), an improvement in the values of FEV₁ (63.59 ± 1.30 vs. $61.06 \pm 1.29\%$ pred.; $p < 0.01$) and FEV₁/FVC 54.53 ± 1.0 vs. $52.29 \pm 1.03\%$; $p < 0.01$). There was a significant decrease in COPD activity according to the CAT test, mMRC, and a decrease in the number of exacerbations during the year. **Conclusion.** Active PC infection in COPD is associated with a high number of eosinophils in the blood and an increased risk of frequent exacerbations of COPD during the year. Treatment of PC infection in COPD with a combination of trimethoprim/sulfamethoxazole leads to a significant improvement in clinical and laboratory parameters and a decrease in the frequency of exacerbations of the disease over the next year.

Key words: chronic obstructive pulmonary disease, Pneumocystis infection, exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease, eosinophilia.

Заняв в 2016 году третье место среди причин смерти в мире хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) продолжает приобретать все большую актуальность для здравоохранения всех стран [1]. В Российской Федерации распространённость ХОБЛ составила 21,8% среди лиц с респираторными симптомами и 15,3% среди лиц общей популяции [2]. В Дальневосточном федеральном округе распространённость ХОБЛ по данным проведенного ранее исследования составляет от 5,1 до 15,4% в зависимости от факта курения и наличия профессиональных вредностей [3]. Прогрессирование ХОБЛ и формирование неблагоприятного прогноза для пациента определяются характеристиками течения данного заболевания, прежде всего наличием обострений. Следует отметить, что впервые возникшее явление частых обострений ХОБЛ (два и более обострений) сохраняется в динамике, что определяет сложность ведения и неблагоприятный прогноз таких пациентов. Кроме того, в настоящее время накопленные данные позволяют выделять фенотип ХОБЛ с эозинофильным воспалением, прежде всего из-за ассоциации повышенного уровня эозинофилов в крови с частыми обострениями ХОБЛ [4, 5]. В подавляющем большинстве случаев обострения ХОБЛ возникают из-за инфекционных агентов, однако около трети всех случаев обострений болезни остаются без выясненной причины [6]. Данная особенность может объясняться трудностями при использовании стандартных методов выявления возбудителей [7]. Однако наличие при ХОБЛ постоянного воспаления с развитием вторичного иммунодефицита может создавать условия для персистенции различных атипичных микроорганизмов, которые могут иметь клиническое значение при данном заболевании [8]. Так, в последние годы возрос интерес к пнев-

моцистой инфекции и в единичных зарубежных исследованиях изучается взаимосвязь между наличием пневмоцисты и течением ХОБЛ [9, 10, 11].

Цель нашего исследования – оценить связь между наличием пневмоцистной инфекции и клинической характеристикой ХОБЛ, а также влияние коррекции активности пневмоцистной инфекции на течение ХОБЛ.

Материалы и методы исследования

Протокол исследования был одобрен этическим комитетом Дальневосточного государственного медицинского университета и соответствует Приказу Минздрава России от 01.04.2016 №200н «Об утверждении правил надлежащей клинической практики» и Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта, в том числе исследований биологических материалов» с поправками от 2013 г. От всех пациентов было получено информированное согласие на участие в исследовании.

Было обследовано 90 пациентов с ХОБЛ в период обострения заболевания. Набор больных проводился на базе терапевтического отделения Дорожной клинической больницы города Хабаровска, а также поликлинических учреждений г. Хабаровска. Все пациенты имели документально подтвержденный диагноз ХОБЛ. Перед включением в исследование у пациентов оценивались жалобы, данные анамнеза и объективного осмотра. Подтверждение диагноза проводилось на основании действующих Федеральных клинических рекомендаций Российской Федерации по ХОБЛ от 2018 года [6], с учетом международных рекомендаций по лечению и профилактике ХОБЛ (GOLD, 2017) [12], а также Меж-

дународной классификации болезней 10-го пересмотра. Обострение ХОБЛ диагностировали в случае наличия ухудшения респираторных симптомов, которое выходило за рамки их обычных ежедневных колебаний и приводило к изменению режима используемой терапии и госпитализации пациента [6].

Критериями включения больных в исследование было наличие установленного ранее диагноза ХОБЛ II, III, IV степени тяжести в стадии обострения. Критериями исключения из исследования было: наличие пневмонии, бронхиальной астмы, интерстициальных болезней лёгких, онкологических заболеваний, сопутствующих заболеваний в стадии декомпенсации.

В период исходного обострения пациентам было выполнено стандартное лабораторно-инструментальное обследование: общий анализ крови и мочи, биохимия крови, анализ мокроты, исследование функции внешнего дыхания с бронхолитиком, электрокардиография, рентгенография и компьютерная томография органов грудной клетки. Использовали анкетирование валидизированными опросниками САТ-тест (COPD Assessment Test) и mMRC (Modified British Medical Research Council), которые оценивают выраженность проявлений ХОБЛ в повседневной жизни больных ХОБЛ. Курящим пациентам рассчитывался индекс курящего человека (ИКЧ) по формуле: $ИКЧ (пачка/лет) = \text{количество сигарет, выкуриваемых за 1 сутки (шт.)} \times \text{количество лет курения (годы)} / 20$. Проводилось исследование антител классов М и G к пневмоцисте в сыворотке крови (использовались наборы ИФА для выявления иммуноглобулинов класса М и G к *Pneumocystis carinii* «ПневмоцистоСтрип», производства ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи» Минздрава России) в начале лечения обострения ХОБЛ, через 10 дней, а также через 4 недели после купирования обострения. Активная инфекция устанавливалась на основании обнаружения IgM или нарастания титра IgG в парных сыворотках через 10 дней в 4 и более раза. Лабораторные исследования проводились в условиях клинико-диагностической лаборатории Дорожной больницы г. Хабаровска.

После купирования исходного обострения ХОБЛ за всеми больными осуществлялось динамическое наблюдение в течение года с интегральной оценкой клинических симптомов заболевания при помощи опросников САТ-тест и mMRC, а также регистрацией эпизодов обострений ХОБЛ. Пациенты в период ремиссии и обострения ХОБЛ получали терапию согласно рекомендациям и стандартам медицинской помощи больным ХОБЛ. По результатам наблюдения группы с пневмоцистной инфекцией в течение 12 месяцев после исходного обострения была сформирована группа из 37 пациентов с двумя и более произошедшими эпизодами обострения ХОБЛ. Данная группа была повторно обследована на наличие антител к пневмоцисте. Пациентам, у которых были выявлены маркеры активной пневмоцистной инфекции, проводилась терапия комбинированным препаратом триметоприм/сульфаметок-

сазол (бисептол) с оценкой клинических, лабораторных и инструментальных данных до начала и после проведения терапии.

Для представления данных использовали среднюю величину показателя (M) и значение ошибки средней ($\pm m$). Достоверность различий между данными двух несвязанных групп определяли с помощью U-критерия Манна-Уитни, достоверность изменений данных группы в динамике оценивали методом Вилкоксона. Сравнение групп по качественному признаку проводилось с использованием точного критерия Фишера двустороннего. Различие между данными считалось значимым при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Группа пациентов в обострении ХОБЛ состояла из 41 человека с ХОБЛ II степени тяжести, 45 и 4 человек с ХОБЛ III и IV степенью тяжести, соответственно. Средний возраст в общей группе больных ХОБЛ ($n=90$) составил $63,49 \pm 0,78$ лет. Курильщиками являлись все обследованные лица, а значение ИКЧ равнялось $34,39 \pm 0,78$ пачка/лет. Маркеры активной пневмоцистной инфекции были выявлены у 56 (62,2%) пациентов: в 91,1% ($n=51$) был выявлен IgM, а у 8,9% ($n=5$) было зафиксировано 4-х кратное увеличение IgG в динамике. С учетом обновленных данных о высокой чувствительности пневмоцисты и её строгой адаптированности к условиям обитания в лёгких, серологические методы являются приемлемыми для подтверждения активности данного микроорганизма в лёгких [13, 14].

При дальнейшем наблюдении в течение года после исходного обострения ХОБЛ выяснилось, что в группе с активной пневмоцистной инфекцией ($n=56$) у 66,1% ($n=37$) пациентов произошло два и более обострения ХОБЛ ($2,68 \pm 0,08$), тогда как в группе больных без активной пневмоцистной инфекции ($n=34$) обострения ХОБЛ произошли у 32,4% ($n=11$) пациентов ($2,45 \pm 0,15$). Таким образом, у пациентов после обострения ХОБЛ в сочетании с пневмоцистной инфекцией достоверно чаще ($p < 0,05$) происходили два и более обострения в последующий год, чем у больных ХОБЛ без пневмоцистной инфекции.

Среди пациентов в обострении ХОБЛ ($n=90$) активная пневмоцистная инфекция достоверно чаще ($p < 0,05$) встречалась в группе с ХОБЛ II степени тяжести – у 55,6% ($n=31$) больных. В группе ХОБЛ III-IV степеней тяжести пневмоцистная инфекция была обнаружена у 51% ($n=25$) пациентов. Через 12 месяцев наблюдения в ремиссии заболевания IgM к пневмоцисте были выявлены у 81,8% ($n=18$) пациентов с ХОБЛ II степенью тяжести и у 33,3% ($n=5$) пациентов с ХОБЛ III-IV степенями тяжести. Таким образом, пневмоцистная инфекция продолжала достоверно чаще ($p < 0,01$) встречаться у пациентов с ХОБЛ II степени тяжести и вне обострения заболевания. Выявленная закономерность может объясняться уникальным для пневмоцисты процессом эволюционной редукции – утрате большей части собст-

венных метаболических путей при адаптации к внутренней среде легких организма хозяина [13, 14]. Например, высокое содержание углекислого газа в легких (5-6%) привело к утрате гена, кодирующего карбоангидразу – ключевого фермента для обеспечения клеток бикарбонатом и регуляции внутриклеточного pH. Утрата пути ферментации пирувата и других генов, необходимых для анаэробного роста, отражает адаптацию исключительно к аэробному дыханию в среде легких со стабильной подачей кислорода. Показатели внутренней среды легких не подвержены выраженным колебаниям в норме. Однако при прогрессировании ХОБЛ изменения в гомеостазе легких возникают все чаще и длятся

дольше, что делает условия обитания для пневмоцисты неподходящими.

В общей группе пациентов (n=90) во время исходного обострения ХОБЛ эозинофилия крови более 300 кл/мкл была выявлена у 42,2% лиц (табл. 1). Через 12 месяцев в группе с частыми обострениями ХОБЛ в период ремиссии уровень эозинофилов крови более 300 кл/мкл был отмечен у 64,9% пациентов. Как видно из таблицы 1, во время исходного обострения ХОБЛ активная пневмоцистная инфекция и уровень эозинофилии крови более 300 кл/мкл достоверно чаще (p<0,01) выявлялись сочетано – у 81,6% пациентов.

Таблица 1

Характеристика исследуемых групп пациентов с зависимости от статуса пневмоцистной инфекции и уровня эозинофилов в периферической крови

Статус ХОБЛ	Статус пневмоцистной инфекции	Уровень эозинофилов					
		более 300 кл/мкл		менее 300 кл/мкл		Всего	
		n	M±m	n	M±m	n	M±m
Исходное обострение (n=90)	Пц+	31 p<0,01*	464,52±6,21	25	231,44±7,28	56	360,46±15,39 p<0,01**
	Пц-	7	462,14±17,08	27	230,04±7,45	34	277,82±13,63
Частые обострения в течение года (n=37)	Пц+	14	439,36±17,58	9	243,67±8,28	23	398,87±19,49 p<0,05**
	Пц-	10	439,80±19,75	4	242,75±14,00	14	324,21±26,68

Примечание: * – статистический анализ с применением точного критерия Фишера (двустороннего); ** – с использованием критерия Манна-Уитни; p – уровень значимости различий показателей между выборками пациентов с различным статусом пневмоцистной инфекции.

Через год наблюдения сочетание активной пневмоцистной инфекции с эозинофилией крови продолжало встречаться чаще, чем эозинофилия без пневмоцистной инфекции (табл. 1). При сравнении количества эозинофилов крови в период исходного обострения было обнаружено достоверно более высокое (p<0,01) их количество у больных с активной пневмоцистной инфекцией (n=56), по сравнению с пациентами (n=34) без пневмоцистной инфекции. В период ремиссии через 12 месяцев от исходного обострения ХОБЛ больные с пневмоцистной инфекцией продолжали иметь достоверно большее (p<0,05) количество эозинофилов крови, чем пациенты без пневмоцистной инфекции. Полученные данные могут свидетельствовать о наличии связи между пневмоцистной инфекцией и уровнем эозинофилов в крови. При анализе данных таблицы 1 также обращает на себя внимание факт сохранения у части пациентов в динамике уровня эозинофилов крови более 300 кл/мкл. Также была выявлена достоверная связь (p<0,01) между уровнем эозинофилов более 300 кл/мкл и наличием частых обострений ХОБЛ (частые обострения ХОБЛ имели 63,2% пациентов с эозинофилией более 300 кл/мкл, и только 25% пациен-

тов с уровнем эозинофилов менее 300 кл/мкл). Полученные данные подтверждают правомерность выделения фенотипа ХОБЛ с эозинофильным воспалением для определения группы риска развития частых обострений ХОБЛ, а также для коррекции тактики введения пациентов.

В группе больных с частыми обострениями ХОБЛ сопоставимые дозы ингаляционных глюкокортикостероидов получали 17,4% лиц с активной пневмоцистной инфекцией (n=23) и 50% пациентов без пневмоцистной инфекции (n=14). При этом в группе с пневмоцистной инфекцией уровень эозинофилов в крови составлял 371,5±52,3 кл/мкл, по сравнению с 327,9±37,7 кл/мкл в группе лиц без пневмоцистной инфекции. Число обострений ХОБЛ на фоне ингаляционных глюкокортикостероидов за год составило 2,5±0,3 в группе с пневмоцистной инфекцией и 2,4±0,2 в группе без пневмоцистной инфекции.

Через 12 месяцев от исходного обострения ХОБЛ из 37 пациентов с частыми обострениями антитела класса IgM к пневмоцисте были обнаружены у 23 больных. С учетом сохранения у пациентов в динамике маркеров активной пневмоцистной инфекции и по-

явлений частых обострений ХОБЛ, было решено провести этиотропную терапию фиксированной комбинацией триметоприм/сульфаметоксазол (ТМП/СМЗ). С учетом противопоказаний для назначения комбинации ТМП/СМЗ (выраженные нарушения функции почек, анемия, лейкопения и др.) для терапии было отобрано 17 из 23 человек. Обследуемая группа (n=17) состояла из 14 пациентов с ХОБЛ II и 3 пациентов с ХОБЛ III, средний возраст составил 56,47±0,96 лет. Курильщиками оказались все пациенты в группе, значение ИКЧ

равнялось 32,12±1,01 пачка/лет. ТМП/СМЗ применялся в дозировке 960 мг 2 раза в день *per os*, курсом 10 дней. Дозировка бисептола и длительность его применения были установлены согласно инструкции по применению препарата. До начала проведения терапии и через 4 недели после ее окончания оценивалась динамика изменений маркеров активной пневмоцистной инфекции, основных показателей общего анализа крови, спирометрии и креатинина (табл. 2).

Таблица 2

Лабораторно-функциональные показатели пациентов с ХОБЛ до и после терапии комбинацией ТМП/СМЗ (M±m)

Показатели	До терапии Бисептолом	Через 4 недели после терапии Бисептолом
Наличие маркеров пневмоцистной инфекции	IgM выявлен (n=17); 898,82±20,21	IgM отсутствует
	Титр IgG выявлен (n=17); 573,53±22,78	Титр IgG выявлен (n=17); 354,71±23,62
ОФV ₁ , %долж.	61,06±1,29	63,59±1,30*
ОФV ₁ /ФЖЕЛ, %	52,29±1,03	54,53±1,02*
Лейкоциты, ×10 ⁹ /л	6,91±0,19	6,08±0,13*
Эритроциты, ×10 ¹² /л	4,86±0,08	4,83±0,07
Гемоглобин, г/л	131,53±1,82	131,29±1,67
Тромбоциты, ×10 ⁹ /л	251,35±7,73	250,24±7,93
Эозинофилы, кл/мкл	349,76±19,76	348,41±20,14
Креатинин, мкмоль/л	89,41±2,95	89,53±2,90

Примечание: * – p<0,01 (статистический анализ с применением критерия Вилкоксона).

Как видно из таблицы 2, до проведения терапии у всех пациентов определялись антитела класса IgM и IgG. После проведения терапии, в динамике у всех пациентов наблюдалось исчезновение антител класса IgM и снижение титра антител класса IgG, что может свидетельствовать об успехе проведенного курса этиотропной терапии. По данным спирометрии после терапии комбинацией ТМП/СМЗ произошло достоверное улучшение значений ОФV₁ (p<0,01) и ОФV₁/ФЖЕЛ (p<0,01). В общем анализе крови через месяц после проведенной терапии обращало на себя внимание значимое (p<0,01) снижение уровня лейкоцитов, при этом достоверных изменений абсолютного количества эозинофилов не произошло. В исследуемой группе ТМП/СМЗ в указанной дозировке и длительности применения не повлиял на показатели красной крови и функцию почек, о чем свидетельствует отсутствие значимых изменений уровней эритроцитов, гемоглобина, тромбоцитов и креатинина после терапии.

Данная положительная динамика по исследуемым лабораторно-функциональным показателям может объясняться не только успешным лечением пневмоцисты, но и применением антибактериальной терапии широкого спектра действия при ХОБЛ. Сами пациенты отметили, что не использовали данный препарат как

минимум последние 10 лет. С учетом таких данных анамнеза закономерно предполагать высокую чувствительность различных микроорганизмов, в том числе колонизирующих легкие, к применяемой лекарственной комбинации у пациентов с ХОБЛ. Тем самым можно ожидать снижение общей бактериальной нагрузки в легких, которая положительно коррелирует с выраженностью воспаления дыхательных путей и частотой обострения ХОБЛ [5].

После окончания терапии комбинацией ТМП/СМЗ (бисептол) осуществлялось динамическое наблюдение за пациентами с использованием опросников mMRC, САТ-теста и учетом количества обострений ХОБЛ. Через установленный интервал времени проводилась сравнительная оценка данных, полученных после терапии бисептолом, с данными после проведенной стандартной терапии обострения ХОБЛ (табл. 3).

Было установлено, что больные с маркерами пневмоцистной инфекции после курсового приема комбинации ТМП/СМЗ по сравнению со стандартной терапией обострения ХОБЛ имели достоверно менее выраженное (p<0,01 – в течение 4 недель, p<0,05 – в течение последующих 11 месяцев) влияние ХОБЛ на повседневную жизнь по данным САТ-теста в течение 12 месяцев. Также пациенты после терапии бисепто-

лом имели достоверно менее выраженную ($p < 0,05$) одышку по данным опросника mMRC через 4 недели, чем после проведенной стандартной терапии обострения ХОБЛ. При сравнении количества обострений ХОБЛ после проведения терапии комбинацией ТМП/СМЗ и после стандартной терапии обострения ХОБЛ обращает на себя внимание факт достоверного

уменьшения количества обострений ХОБЛ у пациентов после терапии бисептолом в течение последующих 12 месяцев ($p < 0,01$ – через 3 месяца и $p < 0,05$ – в течение последующих 9 месяцев). Полученные данные могут быть следствием успешной элиминации возбудителя пневмоцистоза, как возможного фактора обострений ХОБЛ.

Таблица 3

Динамика изменений и сравнительная оценка данных опросников САТ-теста, mMRC и количества обострений ХОБЛ

Параметры (M±m)	Время после окончания терапии				
	Следующий день	Через 4 недели	Через 3 месяца	Через 6 месяцев	Через 12 месяцев
САТ-тест	9,18±0,28 8,35±0,33**	9,24±0,30 8,47±0,35**	10,53±0,58 9,88±0,60*	11,53±0,59 10,82±0,58*	12,88±0,70 11,94±0,69*
mMRC	1,35±0,11 1,18±0,05	1,53±0,12 1,06±0,05*	1,59±0,13 1,29±0,10	1,71±0,14 1,41±0,13	1,88±0,13 1,76±0,15
Количество обострений ХОБЛ	0 0	0 0	0,71±0,10 0,18±0,07**	1,18±0,12 0,76±0,13*	2,24±0,09 1,82±0,12*

Примечание: в числителе – показатели после стандартной терапии исходного обострения ХОБЛ (n=17), в знаменателе – после курса терапии бисептолом (n=17); * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ (статистический анализ с применением критерия Вилкоксона).

Выводы

1. Наличие пневмоцистной инфекции у пациентов с обострением ХОБЛ увеличивает риск возникновения частых обострений ХОБЛ в течение года.

2. Активная пневмоцистная инфекция чаще встречается у пациентов с ХОБЛ II в стадии обострения и ремиссии.

3. Для пациентов с ХОБЛ в обострении и ремиссии в сочетании с активной пневмоцистной инфекцией характерно наличие более высокого абсолютного количества эозинофилов в крови, чем у больных без пневмоцистной инфекции.

4. Терапия активной пневмоцистной инфекции при ХОБЛ комбинированным препаратом триметоприм/

сульфаметоксазол приводит к достоверному улучшению клинико-лабораторных показателей и снижению частоты обострений заболевания в течение последующих 12 месяцев.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Источники финансирования

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

- 10 ведущих причин смерти в мире. Всемирная организация здравоохранения, 2018. URL: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death> (дата обращения 10.09.2020).
- Chuchalin A.G., Khaltaev N., Antonov N.S., Galkin D.V., Manakov L.G., Antonini P., Murphy M., Solodnikov A.G., Bousquet J., Pereira M.H., Demko I.V. Chronic respiratory diseases and risk factors in 12 regions of the Russian Federation // Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis. 2014. Vol.9. P.963-974. doi: 10.2147/COPD.S67283
- Хелимская И.В. Оценка риска развития хронических неспецифических заболеваний легких у работников Дальневосточной железной дороги // Дальневосточный медицинский журнал. 2011. №1. С.10–12.
- Карнаушкина М.А., Данилов Р.С. Эозинофилы как неинвазивный маркер оценки воспалительной активности у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких // Туберкулез и болезни лёгких. 2018. Т.96, №10. С.54–61. doi: 10.21292/2075-1230-2018-96-10-54-61
- Авдеев С.Н. Профилактика обострений хронической обструктивной болезни легких // Пульмонология. 2016. Т.26, №5. С.591–603. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2016-26-5-591-603>
- Федеральные клинические рекомендации по хронической обструктивной болезни лёгких / под ред. А.Г.Чучалина. М.: Российское респираторное общество, 2018. 72 с. URL: <http://cr.rosminzdrav.ru/#!/recomend/908> (дата обращения 11.09.2020).
- Mammen M.J., Sethi S. COPD and the microbiome // Respiriology. 2016. Vol.21, №4. P.590–599.

doi:10.1111/resp.12732

8. Новиков Д.К., Смирнова О.В. Хроническая обструктивная болезнь лёгких: иммунопатогенез, иммунодиагностика и иммунокоррекция // Аллергология и иммунология 2016. Т. 17, №4. С.225–229.

9. Morris A., Sciruba F.C., Norris K.A. Pneumocystis: a novel pathogen in chronic obstructive pulmonary disease? // COPD. 2008. Vol.5, №1. P.43–51. doi:10.1080/15412550701817656

10. Wang D.D., Zheng M.Q., Zhang N., An C.L. Investigation of Pneumocystis jirovecii colonization in patients with chronic pulmonary diseases in the People's Republic of China // Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis. 2015. Vol.10, №1. P.2079–2085. doi:10.2147/COPD.S89666

11. Khodavaisy S., Mortaz E., Mohammadi F., Aliyali M., Fakhim H., Badali H. Pneumocystis jirovecii colonization in Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) // Curr. Med. Mycol. 2015. Vol.1, №1. P.42–48. doi:10.18869/acadpub.cmm.1.1.42

12. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Revised 2017. URL: <https://goldcopd.org/archived-reports/> (дата обращения 13.09.2020)

13. Ma L., Chen Z., Huang da W., Kutty G. et al. Genome analysis of three Pneumocystis species reveals adaptation mechanisms to life exclusively in mammalian hosts // Nat. Commun. 2016. Vol.7. Article number: 10740. doi: 10.1038/ncomms10740

14. Ma L., Cissé O.H., Kovacs J.A. A Molecular Window into the Biology and Epidemiology of Pneumocystis spp // Clin. Microbiol. Rev. 2018. Vol.31, №3. e00009–18. doi: 10.1128/CMR.00009-18

REFERENCES

1. The top 10 causes of death. World Health Organization 2018. Available at: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death> (accessed 10.09.2020).

2. Chuchalin A.G., Khaltaev N., Antonov N.S., Galkin D.V., Manakov L.G., Antonini P., Murphy M., Solodnikov A.G., Bousquet J., Pereira M.H., Demko I.V. Chronic respiratory diseases and risk factors in 12 regions of the Russian Federation. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2014; 9:963–974. doi: 10.2147/COPD.S67283

3. Khelinskaya I.V. Risk evaluation of chronic obstructive pulmonary disease in Far Eastern railway workers. *Far Eastern Medical Journal* 2011; (1):10–12 (in Russian).

4. Karnaushkina M.A., Danilov R.S. Eosinophils as a non-invasive marker to assess inflammatory activities in those suffering from chronic obstructive pulmonary disease. *Tuberculosis and Lung Diseases* 2018; 96(10):54–61 (in Russian). DOI: 10.21292/2075-1230-2018-96-10-54-61

5. Avdeev S.N. Prevention of acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Pulmonologiya* 2016; 26(5):591–603 (in Russian). <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2016-26-5-591-603>

6. Chuchalin A.G., editor. Federal clinical guidelines for chronic obstructive pulmonary disease. Moscow: Russian Respiratory Society; 2018 (in Russian). Available at: <http://cr.rosminzdrav.ru/#!/recommend/908> (accessed 11.09.2020).

7. Mammen M.J., Sethi S. COPD and the microbiome. *Respirology* 2016; 21(4):590–599. doi:10.1111/resp.12732

8. Novikov D.K., Sмирнова О.В. Chronic obstructive pulmonary disease: immunopathogenesis, immunodiagnostics and immunocorrection. *Allergology and Immunology* 2016; 17(4):225–229 (in Russian).

9. Morris A., Sciruba F.C., Norris K.A. Pneumocystis: a novel pathogen in chronic obstructive pulmonary disease? *COPD* 2008; 5(1):43–51. doi:10.1080/15412550701817656

10. Wang D.D., Zheng M.Q., Zhang N., An C.L. Investigation of Pneumocystis jirovecii colonization in patients with chronic pulmonary diseases in the People's Republic of China. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2015; 10(1):2079–2085. doi:10.2147/COPD.S89666

11. Khodavaisy S., Mortaz E., Mohammadi F., Aliyali M., Fakhim H., Badali H. Pneumocystis jirovecii colonization in Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD). *Curr. Med. Mycol.* 2015; 1(1):42–48. doi:10.18869/acadpub.cmm.1.1.42

12. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Revised 2017. Available at: <https://goldcopd.org/archived-reports/> (accesses 13.09.2020).

13. Ma L., Chen Z., Huang da W., Kutty G., Ishihara M., Wang H., Abouelleil A., Bishop L., Davey E., Deng R., Deng X., Fan L., Fantoni G., Fitzgerald M., Gogineni E., Goldberg J.M., Handley G., Hu X., Huber C., Jiao X., Jones K., Levin J.Z., Liu Y., Macdonald P., Melnikov A., Raley C., Sassi M., Sherman B.T., Song X., Sykes S., Tran B., Walsh L., Xia Y., Yang J., Young S., Zeng Q., Zheng X., Stephens R., Nusbaum C., Birren B.W., Azadi P., Lempicki R.A., Cuomo C.A., Kovacs J.A. Genome analysis of three Pneumocystis species reveals adaptation mechanisms to life exclusively in mammalian hosts. *Nat. Commun.* 2016; 7:10740. doi: 10.1038/ncomms10740

14. Ma L., Cissé O.H., Kovacs J.A. A Molecular Window into the Biology and Epidemiology of Pneumocystis spp. *Clin. Microbiol. Rev.* 2018; 31(3):e00009–18. doi: 10.1128/CMR.00009-18

Информация об авторах:

Дмитрий Юрьевич Костенко, аспирант кафедры госпитальной терапии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; e-mail: mitiacostencko@yandex.ru

Ирина Васильевна Зайкова-Хелимска, д-р. мед. наук, профессор кафедры госпитальной терапии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; e-mail: irinavh@mail.ru

Author information:

Dmitry Y. Kostenko, Postgraduate Student of Department of Hospital Therapy, Far Eastern State Medical University; e-mail: mitiacostencko@yandex.ru

Irina V. Zaikova-Khelimskaia, MD, PhD, D.Sc. (Med.), Professor of Department of Hospital Therapy, Far Eastern State Medical University; e-mail: irinavh@mail.ru

Поступила 22.09.2020

Принята к печати 01.10.2020

Received September 22, 2020

Accepted October 01, 2020

УДК 616.24-036.12:616-002-008.953-092:576.32/.36

DOI: 10.36604/1998-5029-2020-78-31-39

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ КАНАЛОВ TRPV1, TRPV4, TRPM8 И TRPA1 В МАКРОФАГАХ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ МОНОЦИТОВ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ

И.Ю.Сугайло, О.О.Котова, Д.А.Гассан, Д.Е.Наумов, Е.Ю.Афанасьева, Т.А.Мальцева

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр
физиологии и патологии дыхания», 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

РЕЗЮМЕ. Введение. Макрофаги – ключевые клетки врожденной иммунной системы, обладающие большой функциональной пластичностью. Прежде на макрофагах были идентифицированы некоторые каналы с транзитным рецепторным потенциалом (TRP), в том числе, являющиеся рецепторами сигаретного дыма и пылевых частиц, что может играть важное значение в патогенезе хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ). **Цель.** Изучить экспрессию генов каналов TRPV1, TRPV4, TRPM8 и TRPA1 в макрофагах, дифференцированных из моноцитов больных ХОБЛ, в условиях стимуляции липополисахаридами (ЛПС) и интерфероном-гамма (ИФН γ) или интерлейкином 4 (ИЛ-4). **Материалы и методы.** Макрофаги дифференцировали *in vitro* из моноцитов, полученных от больных ХОБЛ, в присутствии гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора. Концентрацию цитокинов определяли в супернатанте культуральной среды после проведенной стимуляции методом мультиплексного анализа. Экспрессию генов TRP в макрофагах определяли на уровне мРНК методом количественной ПЦР с обратной транскрипцией. **Результаты.** Действие ЛПС/ИФН γ сопровождалось продукцией как провоспалительных (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-12p70, IP-10, ФНО α), так и некоторых противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10 и TGF β 1). ИЛ-4 значимо увеличивал концентрацию ИЛ-17A. Стимуляция макрофагов ЛПС/ИФН γ увеличивала экспрессию TRPA1 в 5,6 раза ($p=0,01$), но вызывала down-регуляцию TRPV1 и TRPV4 в 8,5 ($p=0,007$) и 3,2 ($p=0,03$) раза, соответственно. ИЛ-4 не оказывал влияния на экспрессию генов TRP. **Заключение.** Полученные результаты могут свидетельствовать о дисрегуляции иммунного ответа у больных ХОБЛ, прежде всего, за счет снижения противовоспалительного потенциала макрофагов. Наблюдаемые ЛПС-индуцированные изменения экспрессии TRP каналов, по-видимому, носят компенсаторный характер, и направлены на ограничение воспалительного ответа клеток.

Ключевые слова: моноциты, макрофаги, TRP каналы, воспаление, сигаретный дым, ХОБЛ.

PECULIARITIES OF TRPV1, TRPV4, TRPM8 AND TRPA1 EXPRESSION IN MONOCYTE-DERIVED MACROPHAGES FROM COPD PATIENTS

I.Yu.Sugaylo, O.O.Kotova, D.A.Gassan, D.E.Naumov, E.Yu.Afnas'eva, T.A.Maltseva

Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk,
675000, Russian Federation

SUMMARY. Introduction. Macrophages are key cells of the innate immune system possessing high functional plasticity. Previously, some transient receptor potential (TRP) channels were identified on macrophages, including those that are receptors for cigarette smoke and particulate matter, which may play an important role in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **Aim.** The aim of this study was to investigate the expression of TRPV1, TRPV4, TRPM8, and TRPA1 in monocyte-derived macrophages from COPD patients under stimulation with lipopolysaccharides (LPS) and interferon-gamma (IFN γ) or interleukin 4 (IL-4). **Materials and methods.** Macrophages were differentiated *in*

Контактная информация

Ивана Юрьевна Сугайло, лаборант-исследователь, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22; E-mail: ivanka_888@mail.ru

Correspondence should be addressed to

Ivana Yu. Sugaylo, Assistant Researcher, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation. E-mail: e-mail: ivanka_888@mail.ru

Для цитирования:

Сугайло И.Ю., Котова О.О., Гассан Д.А., Наумов Д.Е., Афанасьева Е.Ю., Мальцева Т.А. Особенности экспрессии каналов TRPV1, TRPV4, TRPM8 и TRPA1 в макрофагах, полученных из моноцитов больных хронической обструктивной болезнью легких // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2020. Вып.78. С.31–39. DOI: 10.36604/1998-5029-2020-78-31-39

For citation:

Sugaylo I.Yu., Kotova O.O., Gassan D.A., Naumov D.E., Afnas'eva E.Yu., Maltseva T.A. Peculiarities of TRPV1, TRPV4, TRPM8 and TRPA1 expression in monocyte-derived macrophages from COPD patients. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2020; (78):31–39 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2020-78-31-39

in vitro in the presence of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor from monocytes obtained from COPD patients. The concentration of cytokines was determined in the supernatant of the culture medium after stimulation by multiplex analysis. The expression of TRP genes in macrophages was evaluated at mRNA level by quantitative PCR with reverse transcription. **Results.** The effect of LPS/IFN γ was accompanied by the production of both proinflammatory (IL-1 β , IL-6, IL-12p70, IP-10, TNF α) and some anti-inflammatory cytokines (IL-4, IL-10 and TGF β 1). IL-4 significantly increased the concentration of IL-17A. Stimulation of macrophages with LPS/IFN γ increased the expression of *TRPA1* by 5.6 times ($p = 0.01$) but caused down-regulation of *TRPV1* and *TRPV4* by 8.5 ($p = 0.007$) and 3.2 ($p = 0.03$) times, respectively. IL-4 did not exert any effect on the TRP gene expression. **Conclusions.** The results obtained may indicate dysregulation of the immune response in patients with COPD, primarily due to a decrease of anti-inflammatory potential of macrophages. The observed LPS-induced changes in the expression of TRP channels apparently have a compensatory nature and are aimed at the limitation of the cellular inflammatory response.

Key words: monocytes, macrophages, TRP channels, inflammation, cigarette smoke, COPD.

С момента открытия макрофагов И.И.Мечниковым в 1882 году, представления о них претерпели существенные изменения, прежде всего, за счет понимания выдающейся морфофункциональной пластичности данных клеток. Согласно упрощенной классификации, выделяют M1 и M2 фенотипы макрофагов, иначе именуемые как про- и противовоспалительные [1]. Выраженные различия между данными фенотипами можно отметить даже микроскопически: если для первых характерна округлая морфология, то вторые отличаются вытянутой, веретенообразной формой [2]. На молекулярном уровне, классически-активированные M1 клетки характеризуются повышенной экспрессией таких маркеров, как iNOS, CD80, CD86, MHC-II, а также секрецией провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО α , ИЛ-12, ИЛ-23, и, соответственно, наилучшим образом приспособлены для фагоцитоза микробных и опухолевых клеток, с последующим вовлечением в иммунный ответ Т- и В-клеточного звена иммунитета. Для альтернативно-активированных M2 макрофагов, напротив, типична экспрессия CD163, CD206, CD209 рецепторов и продукция цитокинов ИЛ-4, ИЛ-13, ИЛ-10, а также TGF β . Их способность производить презентацию антигенов с вовлечением в ответ системы адаптивного иммунитета ограничена, но хорошо просматривается возможность участия в фагоцитозе апоптотических клеток и клеточного дебриса (эффероцитозе), подавлении воспалительного процесса, стимуляции тканевой репарации и ремоделирования [3]. В последние годы традиционная классификация фенотипов макрофагов была расширена за счет дополнительного разделения противовоспалительного фенотипа на M2a, M2b, M2c и M2d [4]. Тем не менее, в условиях живого организма фенотип макрофагов чаще не имеет выраженной поляризации, а расположен на определенном участке непрерывного «континуума», с преобладанием тех или иных морфофункциональных характеристик, в зависимости от условий клеточного и гуморального микроокружения [5].

Учитывая столь широкие функциональные возможности макрофагов, делающие их вероятными участниками большого числа как физиологических, так и патологических процессов, протекающих в организме, большой научный и практический интерес вызывает

возможность модуляции функционального состояния этих клеток [3]. Так, макрофаги могут играть важную роль в патогенезе такого распространенного заболевания, как хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ). Показано, что в респираторном тракте больных ХОБЛ количество этих клеток существенно увеличено, тем не менее, они не способны эффективно осуществлять фагоцитоз и эффероцитоз, что, по-видимому, вносит вклад в формирование хронического воспаления и ремоделирования в дыхательных путях [6]. Интересно, что при ХОБЛ не отмечается однонаправленной поляризации макрофагов. По данным разных авторов, наряду с M0, обнаруживаются M1, M2 и даже клетки, экспрессирующие комбинированный набор маркеров [6]. Это может быть следствием как дизрегуляции иммунной системы, так и особенностей распределения разных субпопуляций в различных отделах респираторного тракта, либо отражать фенотипические изменения в клетках, происходящие со временем, на фоне циклических обострений и ремиссий ХОБЛ.

Известно, что сигаретный дым и пылевые частицы являются основными этиологическими факторами развития ХОБЛ [7]. При этом, хорошо исследовано их патогенное действие в отношении функциональной активности макрофагов. В экспериментальной модели у мышей сигаретный дым вызывал дозозависимое угнетение эффероцитоза, которое в случае высоких концентраций дыма носило необратимый характер [8]. С данных позиций перспективным может быть изучение функциональной роли рецепторов, опосредующих действие сигаретного дыма и аэрополлютантов на макрофаги. Исследования последних лет продемонстрировали, что в числе таких рецепторов могут находиться некоторые представители семейства каналов с транзитным рецепторным потенциалом (TRP), а именно – TRPV1, TRPV4, TRPM8 и TRPA1 [9]. Все эти каналы были ранее обнаружены на макрофагах, однако вопрос их предназначения остается по-прежнему открытым. На сегодняшний день известно, что экспрессия TRPM8 может увеличиваться при ХОБЛ [10], а полиморфизмы *TRPV1*, *TRPV4*, *TRPM8* и *TRPA1* способны влиять на предрасположенность к данному заболеванию и модулировать степень бронхиальной обструкции [11–14].

Целью настоящего исследования было оценить экспрессию генов *TRPV1*, *TRPV4*, *TRPM8* и *TRPA1* в мак-

рофагах, дифференцированных из моноцитов больных ХОБЛ в M1- или M2-подобный фенотип в условиях *in vitro*.

Материалы и методы исследования

Периферическая венозная кровь в объеме 18 мл была получена от пяти больных ХОБЛ. При проведении исследования руководствовались принципами Хельсинкской декларации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов исследования» с поправками 2013 г. и нормативными документами «Правила надлежащей клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом №200н от 01.04.2016 МЗ РФ. Все лица подписывали информированное согласие на участие в исследовании в соответствии с протоколом, одобренным локальным Комитетом по биомедицинской этике.

Кровь собирали в вакуумные пробирки, содержащие K_3 ЭДТА. Мононуклеары периферической крови (МПК) выделяли из полученных лейкоцитов стандартным методом, путем центрифугирования на градиенте плотности фикола 1,077 г/мл (ООО «Биолот», Россия) при 400g в течение 40 минут. После центрифугирования полученные клетки трижды отмывали стерильным фосфатно-солевым буфером (ФСБ) и помещали во флаконы T25 (Corning Inc., США), содержащие 5 мл RPMI-1640, 10% эмбриональной телячьей сыворотки и 1% пенициллина/стрептомицина. МПК инкубировали при 37°C в атмосфере с 5% CO₂ в течение 2 часов. По окончании инкубации клетки трижды промывали ФСБ для удаления лимфоцитов, а прикрепившиеся моноциты снимали с пластика 0,3% раствором коллагеназы (ООО «Биолот», Россия). Отмытые моноциты ресуспендировали в 1 мл среды RPMI-1640 (Sigma Chemical Co., Германия) и определяли концентрацию и жизнеспособность клеток на автоматическом счетчике Luna-II (Logos Biosystems, Южная Корея). После подсчета клетки рассевали в лунки 12-луночного культурального планшета (Corning Inc., США), содержащие 600 мкл RPMI-1640, 10% сыворотки, 1% пенициллина/стрептомицина и 50 нг/мл гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ, BioLegend, США), из расчета 8×10^5 клеток на лунку. Клетки культивировали в течение 6 суток, проводя замену среды на третьи сутки в объеме 2/3 от исходного. На 6 сутки для поляризации полученных M0 макрофагов в M1 и M2 фенотипы, клеткам меняли среду и добавляли липополисахариды *E. coli* 056:B6 (ЛПС) 100 нг/мл + рекомбинантный человеческий интерферон гамма (ИФН γ) 20 нг/мл, либо интерлейкин 4 (ИЛ-4) 20 нг/мл, соответственно. Клеткам в контрольной лунке также проводили замену среды, но стимулирующие поляризацию факторы не добавляли. Спустя сутки супернатант культуральной среды отбирали в пробирки 1,5 мл и замораживали при -80°C. Клетки растворяли в буфере RL (Qiagen, Германия) и

хранили при -80°C.

Выделение РНК производили наборами RNeasy Mini Kit (Qiagen, Германия). Экспрессию генов TRP каналов определяли методом количественной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией на амплификаторе CFX96 Touch (Bio-Rad, США), используя наборы ОТ-1 (Синтол, Россия) и ПЦР-РВ (Синтол, Россия). В качестве референсного использовали ген *B2M*. Смесь для ПЦР включала в себя: кДНК-матрица 100 нг; 10x ПЦР-буфер 2,5 мкл, MgCl₂ 2,5 mM; dNTP 0,25 mM, праймеры – по 0,2 мкМ каждого, Hot Start Taq-полимераза – 1 ЕД, вода – до 25 мкл. Амплификацию проводили в режиме: предварительная денатурация – 95°C/3 мин., 45 циклов – денатурация 95°C/20 сек., отжиг при 62°C/30 сек. (для *B2M*, *TRPA1*, *TRPV4*) и 65°C/30 сек. (для *TRPM8*, *TRPV1*), элонгация 72°C/30 сек., финальная элонгация – 72°C/5 мин. Для каждого образца амплификацию выполняли в трехкратных повторях, с последующим вычислением среднего арифметического пороговых циклов (Cq). Использованные последовательности праймеров: *TRPV1* – прямой 5'-TCAACAAGATCGCACAGGAGAGC-3', обратный 5'-CTGCCTGAAACTCTGCTTGACCG-3'; *TRPV4* – прямой 5'-TGGTGCTTCAGGGTGGATGA-3', обратный 5'-GAAGGCACTGCTGAAATGCG-3', *TRPM8* – прямой 5'-CATGGAGTCTTCTGTCTGCTGTTTC-3', обратный – 5'-GTGTCGTTGGCTTTTGTGTTGAT-3', *TRPA1* – прямой 5'-AGAGTCCTTCCTAGAACCA-TATCTGAG-3', обратный 5'-GCCAACTGCCAA-ACCAATAAGTAA-3', *B2M* – прямой 5'-CCGTGTGAACCATGTGACTTTGT-3', обратный 5'-TGCGGCATCTTCAAACCTCC-3'.

Концентрацию цитокинов в культуральной среде измеряли с помощью мультиплексного анализа на проточном цитометре FACSCanto II (BD, США), используя набор LEGENDplex™ HU Essential Immune Response Panel (13-plex) (BioLegend, США) в соответствии с инструкцией производителя.

Статистические расчеты выполняли в программном пакете Statistica 12.0 (StatSoft, Inc., США). Все данные представлены в формате Me (Q1-Q3) – медиана и межквартильный интервал. Оценку значимости межгрупповых различий для количественных переменных выполняли с помощью критерия U Манна-Уитни. Анализ экспрессии выполняли в программе REST 2009 V2.0.13 (Qiagen, Германия). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

С целью обобщенной характеристики результатов поляризации макрофагов с ЛПС+ИФН γ или с ИЛ-4 в супернатанте культуральной среды были определены уровни основных цитокинов – ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12p70, ИЛ-17A, ИФН γ , ИФН γ -индуцированный белок 10 (IP-10), фактор некроза опухоли α (ФНО α), моноцитарный хемотаксический белок 1 (MCP-1) и свободный трансформирующий

фактор роста $\beta 1$ (TGF $\beta 1$) (рис.). Можно заметить, что стимуляция ЛПС+ИФН γ приводила к достоверному увеличению продукции большинства провоспалительных цитокинов, типичных для M1 фенотипа (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-12p70, IP-10, ФНО α). Тем не менее, мы также отметили значимый прирост концентрации ИЛ-4, ИЛ-10 и TGF $\beta 1$, что в целом нехарактерно для классически активированных макрофагов. Вопреки ожиданиям, клетки, подвергшиеся воздействию ИЛ-4, не секретировали больших количеств ИЛ-10 или TGF $\beta 1$, но реагировали на стимуляцию существенным приростом провоспалительного ИЛ-17А. Кроме того, в данных условиях отмечалась тенденция к снижению

продукции MCP-1. Анализ концентрации ИФН γ в супернатанте M1 клеток, а также анализ секреции ИЛ-4 в M2 макрофагах был неинформативен – уровни данных цитокинов были значимо увеличены ввиду того, что их добавляли в среду экзогенно. Таким образом, полученные данные лишь условно свидетельствуют о классической и альтернативной поляризации макрофагов, что, вероятно, является отражением искаженного иммунного ответа больных ХОБЛ. При действии ЛПС/ИФН γ ответ клеток был смешанным, а действие ИЛ-4 не сопровождалось секрецией традиционных противовоспалительных цитокинов, но усиливало продукцию ИЛ-17А.

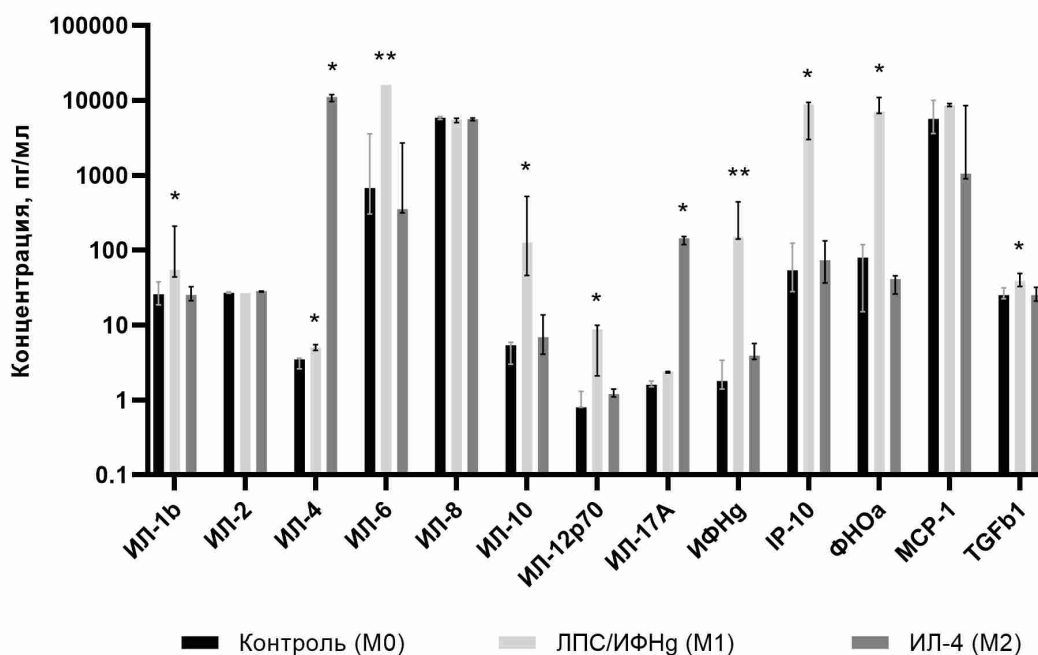


Рис. Концентрация цитокинов в супернатанте культуральной среды макрофагов после стимуляции ЛПС/ИФН γ или ИЛ-4, по сравнению с контрольными клетками. Значимость различий: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$.

Согласно относительной интенсивности экспрессии мРНК в контрольных клетках, TRP каналы располагались в порядке $TRPV1 > TRPV4 > TRPA1 > TRPM8$. Стимуляция ЛПС/ИФН γ приводила к значимому увеличению экспрессии $TRPA1$ в 5,6 раза ($p=0,01$), но угнетала экспрессию $TRPV1$ и $TRPV4$ в 8,5 ($p=0,007$) и 3,2 ($p=0,03$) раза, соответственно. Экспрессия $TRPM8$ на фоне действия ЛПС/ИФН γ достоверно не изменялась. В отличие от ЛПС/ИФН γ , ИЛ-4 не оказывал эффекта на экспрессию изучаемых TRP каналов.

Известно, что дисрегуляция иммунного ответа типична для больных ХОБЛ. Показано, что сигаретный дым способен модулировать ответ макрофагов на стимуляцию ЛПС или ИЛ-4 [15]. Обнаруженные нами особенности секреции иммуносупрессивного цитокина ИЛ-10 в условиях M1 и M2 стимуляции также находят определенные литературные подтверждения. По всей видимости, специфичность ИЛ-10 как маркера M2 макрофагов у больных ХОБЛ снижена. С одной

стороны, показано, что даже у здоровых лиц ЛПС способны увеличивать экспрессию ИЛ-10 [15], с другой – есть данные, что макрофаги, полученные из моноцитов больных ХОБЛ, утрачивают функциональную пластичность и сохраняют провоспалительный фенотип вне зависимости от условий стимуляции [16]. В частности, макрофаги больных ХОБЛ секретировали низкие количества ИЛ-10 в ответ на стимуляцию ИЛ-4, по сравнению с клетками здоровых доноров [16]. По всей видимости, это может относиться и к другим противовоспалительным цитокинам, которые обычно ассоциированы с M2 фенотипом.

В нашей работе мы впервые наблюдали секрецию ИЛ-17А макрофагами больных ХОБЛ под действием ИЛ-4. Данные многих исследований свидетельствуют о повышении уровня данного цитокина при ХОБЛ, тяжелой бронхиальной астме и оверлап синдроме астма-ХОБЛ [17]. В экспериментальной модели ХОБЛ, мыши, нокаутные по гену рецептора ИЛ-17А, были за-

щищены от воспаления и фиброза [18]. Кроме этого, известно, что продукция ИЛ-17 ассоциирована с нейтрофильным воспалением, более выраженной бронхиальной обструкцией и резистентностью к терапии глюкокортикоидами у больных ХОБЛ [19]. В свою очередь, ИЛ-4, являющийся маркером Th2-воспаления, не характерного для ХОБЛ, может увеличиваться при обострении заболевания, одновременно со снижением соотношения Th1/Th2 и ростом продукции ИЛ-17 [20]. Таким образом, полученные нами данные указывают на то, что помимо Th17 клеток, макрофаги также могут служить важным дополнительным источником ИЛ-17 при обострениях ХОБЛ.

В настоящее время достоверная интерпретация наблюдаемых изменений экспрессии каналов TRP на макрофагах затруднена, во многом ввиду относительно ограниченной информации о функциональной роли данных белков. Кроме того, поскольку эксперимент был проведен только на клетках, полученных от больных ХОБЛ, мы не можем судить, связаны ли особенности экспрессии с проявлением заболевания или являются универсальной реакцией, не зависящей от наличия патологии. Также известно, что ЛПС способны не только влиять на экспрессию, но могут и непосредственно активировать TRPV1, TRPV4, TRPA1 и TRPM8 (при снижении температуры до 25°C) [21].

Имеющиеся данные свидетельствуют, что несмотря на то, что TRPA1 опосредует нейрогенное и не-нейрогенное воспаление [22], его активация на макрофагах, по-видимому, сопровождается угнетением M1 поляризации клеток [23]. Следовательно, наблюдаемое нами повышение экспрессии *TRPA1* может являться проявлением механизма отрицательной обратной связи, сдерживающего избыточную продукцию провоспалительных медиаторов. Снижение экспрессии *TRPV1* и *TRPV4* при стимуляции клеток ЛПС/ИФН γ также указывает на компенсаторный характер наблюдаемых изменений, и, вероятно, также направлено на ограничение провоспалительного потенциала макро-

фагов. TRPV1 и TRPV4, в отличие от TRPA1, ассоциированы с провоспалительным ответом макрофагов. Так, блокирование TRPV1 селективными антагонистами снижало ЛПС-индуцированную продукцию провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-18 и экспрессию циклооксигеназы-2 [24]. Также, макрофаги, полученные от TRPV1-нокаутных мышей, демонстрировали снижение способности к фагоцитозу при стимуляции ЛПС [25]. Аналогичные эффекты были отмечены для TRPV4. Активация TRPV4 на макрофагах сопровождалась увеличением продукции активных форм кислорода и азота [26], а сам рецептор был необходим для ЛПС-стимулированного фагоцитоза *E. coli* и латексных частиц [27].

Таким образом, в результате эксперимента мы показали, что действие ЛПС/ИФН γ сопровождается увеличением экспрессии *TRPA1*, но снижением *TRPV1* и *TRPV4*, а ИЛ-4 не влияет на экспрессию указанных рецепторов. Несмотря на то, что ЛПС-индуцированные изменения экспрессии TRP каналов, в целом, оправданы и нацелены на ограничение воспалительной реакции, их степень выраженности может быть далека от оптимальной. Дальнейшие исследования должны быть направлены на уточнение взаимосвязи экспрессии и активности TRP каналов с фагоцитарной способностью макрофагов, а также включать сравнительный анализ изучаемых феноменов у больных ХОБЛ и здоровых лиц.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Источники финансирования

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

1. Mills C.D., Kincaid K., Alt J.M., Heilman M.J., Hill A.M. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm // *J. Immunol.* 2000. Vol.164, №12. P.6166–6173. doi: 10.4049/jimmunol.164.12.6166
2. Gao J., Scheenstra M.R., van Dijk A., Veldhuizen E.J.A., Haagsman H.P. A new and efficient culture method for porcine bone marrow-derived M1- and M2-polarized macrophages // *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2018. Vol.200. P.7–15. doi: 10.1016/j.vetimm.2018.04.002
3. Poltavets A.S., Vishnyakova P.A., Elchaninov A.V., Sukhikh G.T., Fatkhudinov T.K. Macrophage Modification Strategies for Efficient Cell Therapy // *Cells.* 2020. Vol.9, №6. Article number 1535. doi: 10.3390/cells9061535
4. Röszer T. Understanding the Mysterious M2 Macrophage through Activation Markers and Effector Mechanisms // *Mediators Inflamm.* 2015. Vol.2015. Article number 816460. doi: 10.1155/2015/816460
5. Xue J., Schmidt S.V., Sander J., Draffehn A., Krebs W., Quester I., De Nardo D., Gohel T.D., Emde M., Schmidleithner L., Ganesan H., Nino-Castro A., Mallmann M.R., Labzin L., Theis H., Kraut M., Beyer M., Latz E., Freeman T.C., Ulas T., Schultze J.L. Transcriptome-based network analysis reveals a spectrum model of human macrophage activation // *Immunity.* 2014. Vol.40, №2. P.274–288. doi: 10.1016/j.immuni.2014.01.006
6. Yamasaki K., Eeden S.F.V. Lung Macrophage Phenotypes and Functional Responses: Role in the Pathogenesis of COPD // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. Vol.19, №2. Article number 582. doi: 10.3390/ijms19020582
7. Yoshida T., Tuder R.M. Pathobiology of cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease // *Physiol.*

Rev. 2007. Vol.87, №3. P.1047–1082. doi: 10.1152/physrev.00048.2006

8. Richens T.R., Linderman D.J., Horstmann S.A., Lambert C., Xiao Y.Q., Keith R.L., Boé D.M., Morimoto K., Bowler R.P., Day B.J., Janssen W.J., Henson P.M., Vandivier R.W. Cigarette smoke impairs clearance of apoptotic cells through oxidant-dependent activation of RhoA // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2009. Vol.179, №11. P.1011–1021. doi: 10.1164/rccm.200807-1148OC

9. Сугайло И.Ю., Наумов Д.Е. Современные представления о роли каналов с транзиторным рецепторным потенциалом в патогенезе хронической обструктивной болезни легких (обзор литературы) // *Бюллетень физиологии и патологии дыхания.* 2019. Вып.74. С.119–130. <https://doi.org/10.36604/1998-5029-2019-74-119-130>

10. Li M., Li Q., Yang G., Kolosov V.P., Perelman J.M., Zhou X.D. Cold temperature induces mucin hypersecretion from normal human bronchial epithelial cells in vitro through a transient receptor potential melastatin 8 (TRPM8)-mediated mechanism // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011. Vol.128, №3. P.626–634.e1-5. doi: 10.1016/j.jaci.2011.04.032

11. Zhu G.; ICGN Investigators, Gulsvik A., Bakke P., Ghatta S., Anderson W., Lomas D.A., Silverman E.K., Pillai S.G. Association of TRPV4 gene polymorphisms with chronic obstructive pulmonary disease // *Hum. Mol. Genet.* 2009. Vol.18, №11. P.2053–2062. doi: 10.1093/hmg/ddp111

12. Xiong M., Guo M., Huang D., Li J., Zhou Y. TRPV1 genetic polymorphisms and risk of COPD or COPD combined with PH in the Han Chinese population // *Cell Cycle.* 2020. Vol.19, №22. P.3066–3073. doi: 10.1080/15384101.2020.1831246

13. Naumov D., Kotova O., Gassan D., Sheludko E., Afanaseva E., Maltseva T., Sugaylo I. Role of TRPM8 polymorphisms in predisposition to COPD development in smokers // *Eur. Respir. J.* 2020. Vol.56, Suppl.64. Article number 1128. doi: 10.1183/13993003.congress-2020.1128

14. Naumov D., Gassan D., Kotova O., Afanaseva E., Sheludko E., Sugaylo I., Perelman J. Effect of TRPA1 and TRPM8 polymorphisms on lung function in COPD // *Eur. Respir. J.* 2020. Vol.56, Suppl.64. Article number 1129. doi: 10.1183/13993003.congress-2020.1129

15. da Silva C.O., Gicquel T., Daniel Y., Bártholo T., Vène E., Loyer P., Pôrto L.C., Lagente V., Victoni T. Alteration of immunophenotype of human macrophages and monocytes after exposure to cigarette smoke // *Sci. Rep.* 2020. Vol.10, №1. Article number 12796. doi: 10.1038/s41598-020-68753-1

16. Day A., Barnes P., Donnelly L. COPD monocytes differentiate into pro-inflammatory macrophages regardless of environment // *Eur. Respir. J.* 2013. Vol.42, Suppl.57. Article number 3873.

17. Soodaeva S., Postnikova L., Boldina M., Kubysheva N., Li T., Kilimanov I., Nikitina L. Serum IL-17 and IL-18 levels in asthma-COPD overlap syndrome patients // *Eur. Respir. J.* 2015. Vol.46, Suppl.59. PA4886. doi: 10.1183/13993003.congress-2015.PA4886

18. Yanagisawa H., Hashimoto M., Minagawa S., Takasaka N., Ma R., Moermans C., Ito S., Araya J., Budelsky A., Goodsell A., Baron J.L., Nishimura S.L. Role of IL-17A in murine models of COPD airway disease // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2017. Vol.312, №1. P.L122–L130. doi: 10.1152/ajplung.00301.2016

19. Christenson S.A., van den Berge M., Faiz A., Inkamp K., Bhakta N., Bonser L.R., Zlock L.T., Barjaktarevic I.Z., Barr R.G., Bleecker E.R., Boucher R.C., Bowler R.P., Comellas A.P., Curtis J.L., Han M.K., Hansel N.N., Hiemstra P.S., Kaner R.J., Krishnanm J.A., Martinez F.J., O'Neal W.K., Paine R. 3rd, Timens W., Wells J.M., Spira A., Erle D.J., Woodruff P.G. An airway epithelial IL-17A response signature identifies a steroid-unresponsive COPD patient subgroup // *J. Clin. Invest.* 2019. Vol.129, №1. P.169–181. doi: 10.1172/JCI121087

20. Wei B., Sheng Li C. Changes in Th1/Th2-producing cytokines during acute exacerbation chronic obstructive pulmonary disease // *J. Int. Med. Res.* 2018. Vol.46, №9. P.3890–3902. doi: 10.1177/0300060518781642

21. Boonen B., Alpizar Y.A., Sanchez A., López-Requena A., Voets T., Talavera K. Differential effects of lipopolysaccharide on mouse sensory TRP channels // *Cell Calcium.* 2018. Vol.73. P.72–81. doi: 10.1016/j.ceca.2018.04.004

22. Nassini R., Pedretti P., Moretto N., Fusi C., Carnini C., Facchinetti F., Viscomi A.R., Pisano A.R., Stokesberry S., Brunmark C., Svitacheva N., McGarvey L., Patacchini R., Damholt A.B., Geppetti P., Materazzi S. Transient receptor potential ankyrin 1 channel localized to non-neuronal airway cells promotes non-neurogenic inflammation // *PLoS One.* 2012. Vol.7, №8. e42454. doi: 10.1371/journal.pone.0042454

23. Wang Q., Chen K., Zhang F., Peng K., Wang Z., Yang D., Yang Y. TRPA1 regulates macrophages phenotype plasticity and atherosclerosis progression // *Atherosclerosis.* 2020. Vol.301. P.44–53. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2020.04.004

24. Ninomiya Y., Tanuma S.I., Tsukimoto M. Differences in the effects of four TRPV1 channel antagonists on lipopolysaccharide-induced cytokine production and COX-2 expression in murine macrophages // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2017. Vol.484, №3. P.668–674. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.01.173

25. Fernandes E.S., Liang L., Smillie S.J., Kaiser F., Purcell R., Rivett D.W., Alam S., Howat S., Collins H., Thompson S.J., Keeble J.E., Riffo-Vasquez Y., Bruce K.D., Brain S.D. TRPV1 deletion enhances local inflammation and accelerates the onset of systemic inflammatory response syndrome // *J. Immunol.* 2012. Vol.188, №11. P.5741–5751. doi: 10.4049/jimmunol.1102147

26. Hamanaka K., Jian M.Y., Townsley M.I., King J.A., Liedtke W., Weber D.S., Eyal F.G., Clapp M.M., Parker J.C.

TRPV4 channels augment macrophage activation and ventilator-induced lung injury // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2010. Vol.299, №3. P.L353–362. doi: 10.1152/ajplung.00315.2009

27. Scheraga R.G., Abraham S., Niese K.A., Southern B.D., Grove L.M., Hite R.D., McDonald C., Hamilton T.A., Olman M.A. TRPV4 Mechanosensitive Ion Channel Regulates Lipopolysaccharide-Stimulated Macrophage Phagocytosis // *J. Immunol.* 2016. Vol.196, №1. P.428–436. doi: 10.4049/jimmunol.1501688

REFERENCES

1. Mills C.D., Kincaid K., Alt J.M., Heilman M.J., Hill A.M. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm. *J. Immunol.* 2000; 164(12):6166–6173. doi: 10.4049/jimmunol.164.12.6166
2. Gao J., Scheenstra M.R., van Dijk A., Veldhuizen E.J.A., Haagsman H.P. A new and efficient culture method for porcine bone marrow-derived M1- and M2-polarized macrophages. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2018; 200:7–15. doi: 10.1016/j.vetimm.2018.04.002
3. Poltavets A.S., Vishnyakova P.A., Elchaninov A.V., Sukhikh G.T., Fatkhudinov T.K. Macrophage Modification Strategies for Efficient Cell Therapy. *Cells* 2020; 9(6):1535. doi: 10.3390/cells9061535
4. Röszer T. Understanding the Mysterious M2 Macrophage through Activation Markers and Effector Mechanisms. *Mediators Inflamm.* 2015; 2015:816460. doi: 10.1155/2015/816460
5. Xue J., Schmidt S.V., Sander J., Draffehn A., Krebs W., Quester I., De Nardo D., Gohel T.D., Emde M., Schmidleithner L., Ganesan H., Nino-Castro A., Mallmann M.R., Labzin L., Theis H., Kraut M., Beyer M., Latz E., Freeman T.C., Ulas T., Schultze J.L. Transcriptome-based network analysis reveals a spectrum model of human macrophage activation. *Immunity* 2014; 40(2):274–288. doi: 10.1016/j.immuni.2014.01.006
6. Yamasaki K., Eeden S.F.V. Lung Macrophage Phenotypes and Functional Responses: Role in the Pathogenesis of COPD. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 19(2):582. doi: 10.3390/ijms19020582
7. Yoshida T., Tuder R.M. Pathobiology of cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease. *Physiol. Rev.* 2007; 87(3):1047–1082. doi: 10.1152/physrev.00048.2006
8. Richens T.R., Linderman D.J., Horstmann S.A., Lambert C., Xiao Y.Q., Keith R.L., Boé D.M., Morimoto K., Bowler R.P., Day B.J., Janssen W.J., Henson P.M., Vandivier R.W. Cigarette smoke impairs clearance of apoptotic cells through oxidant-dependent activation of RhoA. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2009; 179(11):1011–1021. doi: 10.1164/rccm.200807-1148OC
9. Sugaylo I.Yu., Naumov D.E. Modern concepts of the role of transient receptor potential channels in chronic obstructive pulmonary disease pathogenesis (review). *Бюллетень физиологии и патологии дыхания* = *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2019; (74):119–130 (in Russian). <https://doi.org/10.36604/1998-5029-2019-74-119-130>
10. Li M., Li Q., Yang G., Kolosov V.P., Perelman J.M., Zhou X.D. Cold temperature induces mucin hypersecretion from normal human bronchial epithelial cells in vitro through a transient receptor potential melastatin 8 (TRPM8)-mediated mechanism. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011; 128(3):626–634.e1-5. doi: 10.1016/j.jaci.2011.04.032
11. Zhu G.; ICGN Investigators, Gulsvik A., Bakke P., Ghatta S., Anderson W., Lomas D.A., Silverman E.K., Pillai S.G. Association of TRPV4 gene polymorphisms with chronic obstructive pulmonary disease. *Hum. Mol. Genet.* 2009; 18(11): 2053–2062. doi: 10.1093/hmg/ddp111
12. Xiong M., Guo M., Huang D., Li J., Zhou Y. TRPV1 genetic polymorphisms and risk of COPD or COPD combined with PH in the Han Chinese population. *Cell Cycle* 2020; 19(22):3066–3073. doi: 10.1080/15384101.2020.1831246
13. Naumov D., Kotova O., Gassan D., Sheludko E., Afanaseva E., Maltseva T., Sugaylo I. Role of TRPM8 polymorphisms in predisposition to COPD development in smokers. *Eur. Respir. J.* 2020; 56(Suppl.64):1128. doi: 10.1183/13993003.congress-2020.1128
14. Naumov D., Gassan D., Kotova O., Afanaseva E., Sheludko E., Sugaylo I., Perelman J. Effect of TRPA1 and TRPM8 polymorphisms on lung function in COPD. *Eur. Respir. J.* 2020; 56(Suppl.64): 1129. doi: 10.1183/13993003.congress-2020.1129
15. da Silva C.O., Gicquel T., Daniel Y., Bártholo T., Vène E., Loyer P., Pôrto L.C., Lagente V., Victoni T. Alteration of immunophenotype of human macrophages and monocytes after exposure to cigarette smoke. *Sci. Rep.* 2020; 10(1):12796. doi: 10.1038/s41598-020-68753-1
16. Day A., Barnes P., Donnelly L. COPD monocytes differentiate into pro-inflammatory macrophages regardless of environment. *Eur. Respir. J.* 2013; 42(Suppl.57):3873.
17. Soodaeva S., Postnikova L., Boldina M., Kubysheva N., Li T., Kilimanov I., Nikitina L. Serum IL-17 and IL-18 levels in asthma-COPD overlap syndrome patients. *Eur. Respir. J.* 2015; 46(Suppl.59): PA4886. doi: 10.1183/13993003.congress-2015.PA4886
18. Yanagisawa H., Hashimoto M., Minagawa S., Takasaka N., Ma R., Moermans C., Ito S., Araya J., Budelsky A., Goodsell A., Baron J.L., Nishimura S.L. Role of IL-17A in murine models of COPD airway disease. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2017; 312(1):L122–L130. doi: 10.1152/ajplung.00301.2016
19. Christenson S.A., van den Berge M., Faiz A., Inkamp K., Bhakta N., Bonser L.R., Zlock L.T., Barjaktarevic I.Z.,

Barr R.G., Bleecker E.R., Boucher R.C., Bowler R.P., Comellas A.P., Curtis J.L., Han M.K., Hansel N.N., Hiemstra P.S., Kaner R.J., Krishnam J.A., Martinez F.J., O'Neal W.K., Paine R. 3rd, Timens W., Wells J.M., Spira A., Erle D.J., Woodruff P.G. An airway epithelial IL-17A response signature identifies a steroid-unresponsive COPD patient subgroup. *J. Clin. Invest.* 2019; 129(1):169–181. doi: 10.1172/JCI121087

20. Wei B., Sheng Li C. Changes in Th1/Th2-producing cytokines during acute exacerbation chronic obstructive pulmonary disease. *J. Int. Med. Res.* 2018; 46(9):3890–3902. doi: 10.1177/0300060518781642

21. Boonen B., Alpizar Y.A., Sanchez A., López-Requena A., Voets T., Talavera K. Differential effects of lipopolysaccharide on mouse sensory TRP channels. *Cell Calcium* 2018; 73:72–81. doi: 10.1016/j.ceca.2018.04.004

22. Nassini R., Pedretti P., Moretto N., Fusi C., Carnini C., Facchinetti F., Viscomi A.R., Pisano A.R., Stokesberry S., Brunmark C., Svitacheva N., McGarvey L., Patacchini R., Damholt A.B., Geppetti P., Materazzi S. Transient receptor potential ankyrin 1 channel localized to non-neuronal airway cells promotes non-neurogenic inflammation. *PLoS One* 2012; 7(8):e42454. doi: 10.1371/journal.pone.0042454

23. Wang Q., Chen K., Zhang F., Peng K., Wang Z., Yang D., Yang Y. TRPA1 regulates macrophages phenotype plasticity and atherosclerosis progression. *Atherosclerosis* 2020; 301:44–53. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2020.04.004

24. Ninomiya Y., Tanuma S.I., Tsukimoto M. Differences in the effects of four TRPV1 channel antagonists on lipopolysaccharide-induced cytokine production and COX-2 expression in murine macrophages. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2017; 484(3):668–674. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.01.173

25. Fernandes E.S., Liang L., Smillie S.J., Kaiser F., Purcell R., Rivett D.W., Alam S., Howat S., Collins H., Thompson S.J., Keeble J.E., Riffo-Vasquez Y., Bruce K.D., Brain S.D. TRPV1 deletion enhances local inflammation and accelerates the onset of systemic inflammatory response syndrome. *J. Immunol.* 2012; 188(11):5741–5751. doi: 10.4049/jimmunol.1102147

26. Hamanaka K., Jian M.Y., Townsley M.I., King J.A., Liedtke W., Weber D.S., Eyal F.G., Clapp M.M., Parker J.C. TRPV4 channels augment macrophage activation and ventilator-induced lung injury. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2010; 299(3): L353–362. doi: 10.1152/ajplung.00315.2009

27. Scheraga R.G., Abraham S., Niese K.A., Southern B.D., Grove L.M., Hite R.D., McDonald C., Hamilton T.A., Olman M.A. TRPV4 Mechanosensitive Ion Channel Regulates Lipopolysaccharide-Stimulated Macrophage Phagocytosis. *J. Immunol.* 2016; 196(1):428–436. doi: 10.4049/jimmunol.1501688

Информация об авторах:

Ивана Юрьевна Сугайло, лаборант-исследователь, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: ivanka_888@mail.ru

Олеся Олеговна Котова, младший научный сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: foxy_voxy_on@mail.ru

Дина Анатольевна Гассан, канд. мед. наук., научный сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: dani-shi@mail.ru

Денис Евгеньевич Наумов, канд. мед. наук, зав. лабораторией, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: denn1985@bk.ru

Евгения Юрьевна Афанасьева, младший научный сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: evgeniyananev@yandex.ru

Author information:

Ivana Yu. Sugaylo, Assistant Researcher, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: ivanka_888@mail.ru

Olesya O. Kotova, MD, Junior Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: foxy_voxy_on@mail.ru

Dina A. Gassan, MD, PhD (Med.), Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: dani-shi@mail.ru

Denis E. Naumov, MD, PhD (Med.), Head of Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: denn1985@bk.ru

Evgeniya Yu. Afanas'eva, MD, Junior Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: evgeniyananev@yandex.ru

Татьяна Анатольевна Мальцева, канд. мед. наук, научный сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: malta-82@mail.ru

Tatyana A. Maltseva, MD, PhD (Med.), Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: malta-82@mail.ru

*Поступила 16.11.2020
Принята к печати 30.11.2020*

*Received November 16, 2020
Accepted November 30, 2020*

УДК 616.248:612.25:577.25:577.25:577.218

DOI: 10.36604/1998-5029-2020-78-40-46

АНАЛИЗ УРОВНЕЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ *TRPV* В РЕСПИРАТОРНОМ ЭПИТЕЛИИ БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ С ОСМОТИЧЕСКОЙ ГИПЕРРЕАКТИВНОСТЬЮ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

О.О.Котова, Д.Е.Наумов, Е.Ю.Афанасьева, А.Н.Одиреев, Ю.М.Перельман

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

РЕЗЮМЕ. Введение. Среди больных бронхиальной астмой (БА) широко распространено явление гиперреактивности дыхательных путей в ответ на изменение влажности воздуха. Каналы с транзиторным рецепторным потенциалом ваниллоидного подсемейства (*TRPV*) представляют интерес в области изучения специфических механизмов осмотической гиперреактивности бронхов. **Цель.** Оценить экспрессию генов *TRPV1*, *TRPV2*, *TRPV4* на уровне мРНК в эпителии верхних и нижних дыхательных путей у больных БА с осмотической гиперреактивностью дыхательных путей. **Материалы и методы.** Обследовано 35 больных БА легкой и средней степени тяжести. Всем пациентам были выполнены бронхопровокационные пробы с гипо- и гиперосмотическими растворами. Экспрессия *TRPV* рецепторов исследовалась в браш-биоптатах назального и бронхиального эпителия методом количественной ПЦР с обратной транскрипцией. **Результаты.** Гиперреактивность дыхательных путей на гипоосмотический и гиперосмотический стимулы наблюдалась в 25 и 50% случаев, соответственно. Установлено, что пациенты с более низким исходным $ОФВ_1$ имели сверхэкспрессию *TRPV1* (в 3,2 раза, $p=0,05$) и *TRPV2* (в 6,2 раза, $p=0,013$) в бронхиальном эпителии. Гипоосмотическая гиперреактивность дыхательных путей была связана с повышенной экспрессией генов *TRPV1* (7,4 раза, $p=0,004$) и *TRPV2* (18,5 раза, $p=0,014$) в эпителии бронхов. Гиперреактивность дыхательных путей на гипертонический стимул также характеризовалась более высокой экспрессией *TRPV1* (в 4,7 раза, $p=0,013$) и *TRPV2* (в 7,6 раза, $p=0,024$). Разницы в уровнях экспрессии *TRPV4* не было обнаружено. **Заключение.** Полученные данные свидетельствуют об ир-регуляции *TRPV1* и *TRPV2* в бронхиальном эпителии больных астмой с осмотической гиперреактивностью дыхательных путей, что может указывать на роль этих рецепторов в развитии осмотических реакций дыхательных путей и патогенезе БА.

Ключевые слова: бронхиальная астма, гиперреактивность дыхательных путей, осморецепция, *TRPV1*, *TRPV2*, *TRPV4*, экспрессия, эпителий.

ANALYSIS OF *TRPV* GENE EXPRESSION IN THE RESPIRATORY EPITHELIUM OF ASTHMA PATIENTS WITH OSMOTIC AIRWAY HYPERRESPONSIVENESS

О.О.Kotova, D.E.Naumov, E.Yu.Afanas'eva, A.N.Odireev, J.M.Perelman

Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

SUMMARY. Introduction. The phenomenon of airway hyperresponsiveness in response to changes in air humidity is widespread among patients with asthma. Transient receptor potential channels of the vanilloid subfamily (*TRPV*) are of interest in terms of study of specific mechanisms of bronchial osmotic hyperresponsiveness. **Aim.** The aim of the study was to evaluate the expression *TRPV1*, *TRPV2* and *TRPV4* genes at mRNA level in the epithelium of the upper and lower respiratory tract in asthma patients with osmotic airway hyperresponsiveness. **Materials and methods.** We examined 35

Контактная информация

Олеся Олеговна Котова, младший научный сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22; E-mail: e-mail: foxy_voxy_on@mail.ru

Correspondence should be addressed to

Olesya O. Kotova, MD, Junior Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation. E-mail: e-mail: foxy_voxy_on@mail.ru

Для цитирования:

Котова О.О., Наумов Д.Е., Афанасьева Е.Ю., Одиреев А.Н., Перельман Ю.М. Анализ уровней экспрессии генов *TRPV* в респираторном эпителии больных бронхиальной астмой с осмотической гиперреактивностью дыхательных путей // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2020. Вып.78. С. 40–46. DOI: 10.36604/1998-5029-2020-78-40-46

For citation:

Kotova O.O., Naumov D.E., Afanas'eva E.Yu., Odireev A.N., Perelman J.M. Analysis of *TRPV* gene expression in the respiratory epithelium of asthma patients with osmotic airway hyperresponsiveness. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2020; (78):40–46 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2020-78-40-46

patients with mild and moderate asthma. All patients underwent bronchoprovocation tests with hypo- and hyperosmotic solutions. Expression of TRPV receptors was studied in brush biopsies of the nasal and bronchial epithelium by quantitative PCR with reverse transcription. **Results.** Airway hyperresponsiveness to hypoosmotic and hyperosmotic stimuli was observed in 25% and 50% of cases, respectively. It was found that patients with lower baseline FEV₁ had overexpression of *TRPV1* (3.2 times, $p=0.05$) and *TRPV2* (6.2 times, $p=0.013$) in the bronchial epithelium. Hypoosmotic airway hyperresponsiveness was associated with increased expression of the *TRPV1* (7.4 times, $p=0.004$) and *TRPV2* (18.5 times, $p=0.014$) genes in the bronchial epithelium. Airway hyperresponsiveness to hypertonic stimulus was also characterized by higher expression of *TRPV1* (4.7 times, $p=0.013$) and *TRPV2* (7.6 times, $p=0.024$). No difference in *TRPV4* expression levels was found. **Conclusion.** The obtained data indicate the up-regulation of *TRPV1* and *TRPV2* in the bronchial epithelium of asthma patients with osmotic airway hyperresponsiveness, what, in turn, may indicate the role of these receptors in the development of airway osmotic-induced responses and in the pathogenesis of asthma.

Keywords: asthma, airway hyperresponsiveness, osmoreception, *TRPV1*, *TRPV2*, *TRPV4*, expression, epithelium.

Несмотря на гетерогенную природу развития бронхиальной астмы (БА), данное заболевание всегда ассоциируется с гиперреактивностью дыхательных путей (ДП) [1]. В развитии бронхоспазма и, соответственно, появлении клинических симптомов у больных БА большую роль отводят воздействию климатических факторов. В мировой литературе встречаются данные о том, что изменение таких параметров окружающей среды, как температура и влажность могут приводить к различным патологическим реакциям со стороны респираторного тракта, в том числе к потере контроля над БА и увеличению частоты обострений заболевания [2–5].

Вдыхание сухого или влажного воздуха приводит к изменению осмолярности на поверхности ДП, тем самым, вызывая высвобождение воспалительными клетками различных медиаторов, воздействующих на специфические рецепторы гладкой мускулатуры бронхов и провоцирующих бронхоконстрикцию [6]. Считается, что важную роль в данной реакции играют тучные клетки, являющиеся источником подобных медиаторов [7].

В последние годы большое внимание уделяется каналам с транзитным рецепторным потенциалом ваниллоидного подсемейства (TRPV), способным реагировать не только на температурные стимулы, но и на изменение осмотического давления. Известно, что снижение осмотического давление способно активировать TRPV2 и TRPV4 рецепторы [8, 9], в то время как каналы TRPV1 чувствительны к гиперосмотическим изменениям [10].

Исследования, проведенные в области изучения экспрессии данных каналов в человеческом организме, демонстрируют присутствие этих рецепторов в различных структурах респираторного тракта, в частности, на клетках эпителия [11, 12], интраэпителиальных нервных окончаниях [13], гладкой мускулатуре [14], лимфоцитах [15] и макрофагах [16]. Существуют данные о вовлеченности TRPV каналов в патогенез различных респираторных заболеваний, в том числе БА. Наряду с этим, рядом исследователей обнаружено увеличение экспрессии TRPV рецепторов на клетках ДП в условиях патологии, например, у больных с хроническим кашлем [13] или БА, особенно при тяжелом

течении [11].

Цель данного исследования заключалась в определении уровней экспрессии генов *TRPV1*, *TRPV2*, *TRPV4* в эпителии верхних и нижних дыхательных путей у больных БА с различной реактивностью бронхов на гипо- и гиперосмотические стимулы.

Материалы и методы исследования

В исследование были включены 35 пациентов с установленным диагнозом БА легкой и средней степени тяжести. Среди обследованного контингента преобладали женщины (65%). Средний возраст обследованных составил $40,0 \pm 1,96$ лет. При проведении исследования руководствовались принципами Хельсинкской декларации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов исследования» с поправками 2013 г. и нормативными документами «Правила надлежащей клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом №200н от 01.04.2016 МЗ РФ. Больные подписывали информированное согласие на участие в исследовании в соответствии с протоколом, одобренным локальным Комитетом по биомедицинской этике.

В качестве модели гипо- и гиперосмотического воздействия на ДП использовали 3-минутные бронхопровокационные пробы с ингаляцией дистиллированной воды или 4,5% NaCl, соответственно, при помощи ультразвуковых ингаляторов Thomex L-2 (Польша). Оценка вентиляционной функции лёгких до и после (1 и 5 мин) проведения проб производилось методом спирометрии на аппарате Easy on-PC (ndd Medizintechnik AG, Швейцария). При снижении ОФВ₁ на 10% и более по отношению к исходному бронхопровокационная проба считалась положительной.

Забор образцов респираторного эпителия производили перед проведением бронхопровокационных проб методом браш-биопсии с использованием цитологических щеток. Назальный эпителий получали из нижней носовой раковины под риноскопическим контролем, клетки бронхиального эпителия – во время проведения диагностической видеобронхоскопии (Karl Storz, Германия). Собранный материал немедленно обрабатывали RNAprotect Cell Reagent (Qiagen, Германия) и замораживали при -80°C до момента выделения РНК.

Экстракцию РНК производили с помощью наборов RNeasy Plus Mini Kit (Qiagen, Германия) и включала в себя этапы гомогенизации с помощью колонок QIAshredder (Qiagen, Германия), удаления геномной ДНК на колонках gDNA Eliminator Mini Spin Columns и непосредственное осаждение тотальной РНК на колонках RNeasy Mini Spin Column. На завершающем этапе проводили элюирование РНК водой, не содержащей РНКаз. Оценку качества РНК производили методом электрофореза свежеевыделенного образца в 1% агарозном геле с дальнейшим окрашиванием бромистым этидием и визуализацией на трансиллюминаторе. Качественные образцы демонстрировали хорошую визуализацию 28S и 18S рРНК с соотношением интенсивности полос 2:1. Выделенную тотальную РНК аликвотировали и замораживали при -80°C.

Образцы РНК, не имеющие признаков существенной деградации, подвергались обратной транскрипции в соответствии с инструкцией к коммерческому набору ОТ-1 (Синтол, Россия). Смесь 5 мкл РНК (1-2 мкг тотальной РНК), воды, свободной от нуклеаз, и комбина-

ции Олиго(dT)15 и Random-6 праймеров, инкубировалась в течение 5 минут при температуре 65°C, охлаждалась на льду 1 минуту, после чего производилась 10-минутная инкубация при температуре 25°C. Затем добавлялась 2,5X реакционная смесь и ревертаза MMLV-RT до общего объема 25 мкл. Обратную транскрипцию проводили в амплификаторе ДТ-96 (ДНК-технология, Россия) при температуре 42°C в течение 1 часа, после чего инактивировали фермент при 92°C в течение 3 минут. Полученная кДНК хранилась при -20°C до момента анализа.

В качестве референсных генов были выбраны гены *PPIA* (пептидилпролил изомераза А или циклофилин А), *B2M* (бета-2-микроглобулин), *RPLP0* (60 S кислый рибосомальный белок Р0), которые достаточно стабильно экспрессируются в клетках. Исследование экспрессии референсных и целевых генов *TRPV1*, *TRPV2*, *TRPV4* производилось с помощью ПЦР в реальном времени в присутствии интеркалирующего красителя EvaGreen (Синтол, Россия). Используемые праймеры приведены в таблице.

Таблица

Праймеры и концентрация магния, используемые в ПЦР для анализа экспрессии генов

Ген	Олигонуклеотидные последовательности	MgCl ₂ , мМ
<i>PPIA</i>	FWD 5'- ACGTGGTATAAAAGGGGCGG -3'	2,0
	REV 5'- CTTGTCTGCAAACAGCTCAAAGG -3'	
<i>B2M</i>	FWD 5'- CCGTGTGAACCATGTGACTTTGT -3'	2,0
	REV 5'- TGCGGCATCTTCAAACCTCC -3'	
<i>RPLP0</i>	FWD 5'- TTAACCCTGCGTGGCAATCCCT -3'	2,0
	REV 5'- CCACATCCCCCGGATATGAGGC -3'	
<i>TRPV1</i>	FWD 5'- TCAACAAGATCGCACAGGAGAGC -3'	1,0
	REV 5'- CTGCTGAAACTCTGCTTGACCG -3'	
<i>TRPV2</i>	FWD 5'- GCTGGTGCTTCAGGGTGGAGGA -3'	1,0
	REV 5'- TTGGACTGGAGGAGCTGGACGG -3'	
<i>TRPV4</i>	FWD 5'- TGGTGCTTCAGGGTGGATGA -3'	1,0
	REV 5'- GAAGGCACTGCTGAAATGCG -3'	

Смесь для ПЦР включала в себя: кДНК-матрица 100 нг; 1x ПЦР-буфер, содержащий EvaGreen, MgCl₂ (см. таблицу); dNTP 0,25 мМ, праймеры – обратный - 0,2 мкМ, прямой - 0,2 мкМ, Hot Start Taq-полимераза, ингибированная антителами – 1 ЕД, вода – до 25 мкл. Амплификация проводилась в режиме: предварительная денатурация – 95°C/3 мин, 45 циклов – денатурация 95°C/20 сек, отжиг при 62°C/30 сек, элонгация – 72°C/30 сек, финальная элонгация – 72°C/5 мин. Для каждого гена амплификацию выполняли в трехкратных повторах. Из трех полученных значений пороговых циклов (Ct) вычисляли среднее арифметическое для каждого случая.

Для определения наиболее стабильно экспрессирующегося референсного гена из списка выбранных был проведен анализ кандидатов с использованием программного инструмента RefFinder [17], позволяющего проводить комплексные расчеты несколькими методами одновременно (алгоритмы BestKeeper, NormFinder, Genorm, comparative delta-Ct), и определяющий финальную оценку по совокупности результатов применения данных методов.

Анализ экспрессии выполнялся в программном обеспечении REST 2009 V2.0.13, (Qiagen GmbH, 2009), реализующем коррекцию на эффективность амплификации каждого гена, а также техники рандомизации и

бутстрэппинга для повышения точности статистических вычислений.

Результаты исследования и их обсуждение

Среди пациентов, включенных в исследование, положительная бронхопровокационная проба на гипосмотический стимул была обнаружена в 25% случаев, в то время как на ингаляцию гипертонического раствора снижением показателя $ОФВ_1$ на 10% и более реагировали 50% испытуемых. Содружественная гиперреактивность ДП на оба стимула отмечалась у 26% пациентов.

С учетом результатов, полученных с помощью Ref-Finder, ген *PPIA* был определен, как наиболее стабильно экспрессирующийся в бронхиальном и назальном эпителии. В соответствии с этим, при дальнейшем анализе экспрессии *TRPV1*, *TRPV2*, *TRPV4* нормализация проводилась именно по данному референсному гену.

При анализе уровней экспрессии целевых генов не было выявлено достоверного отличия между образцами назального и бронхиального эпителия. Однако было обнаружено преобладание экспрессии *TRPV4* как в назальном, так и бронхиальном эпителии по сравнению с другими генами. Таким образом, *TRPV4* экспрессировался в 9,1 и 6,5 раз сильнее ($p=0,001$), чем *TRPV1* и *TRPV2*, соответственно, в клетках назального эпителия, и в 35,5 и 37,4 раз ($p<0,001$), соответственно, в эпителиальных клетках бронхов. Значимых различий между экспрессией *TRPV1* и *TRPV2* установлено не было.

Среди образцов назального эпителия, при ассоциативном анализе экспрессии исследуемых генов с гиперреактивностью ДП на осмотические стимулы, значимых взаимосвязей выявить не удалось. Между пациентами с осмотической гиперреактивностью ДП и без гиперреактивности уровни экспрессии *TRPV1*, *TRPV2* и *TRPV4* статистически не отличались.

При этом, в отличие от образцов назального эпителия, в браш-биоптатах слизистой оболочки бронхов было обнаружено повышение экспрессии *TRPV1* и *TRPV2* у пациентов с положительной реакцией на осмотические стимулы. В частности, у больных, имеющих гипосмотическую гиперреактивность ДП, количество мРНК генов *TRPV1* и *TRPV2* было выше в 7,4 ($p=0,004$) и 18,5 раз ($p=0,014$), соответственно, чем у больных без гиперреактивности в ответ на ингаляцию дистиллированной воды (рис. 1).

Данная ассоциация прослеживалась и в отношении пациентов с гиперосмотической гиперреактивностью ДП. Аналогичным образом, в бронхиальном эпителии лиц с положительной пробой на гипертонический раствор гены *TRPV1* и *TRPV2* были экспрессированы, соответственно, в 4,7 ($p=0,013$) и 7,6 раз ($p=0,024$) больше, чем у больных без гиперреактивности (рис. 2).

Кроме всего вышесказанного, также прослеживалась взаимосвязь экспрессии данных генов с исходным

уровнем $ОФВ_1$. Учитывая данные спирограмм до проведения бронхопровокационных проб, пациенты были разделены на две подгруппы – с показателями $ОФВ_1$ ниже и выше 82% от должного. При этом, у пациентов с более низкими показателями $ОФВ_1$ отмечалась иррегуляция генов *TRPV1* (в 3,2 раза, $p=0,05$) и *TRPV2* (в 6,2 раза, $p=0,013$).

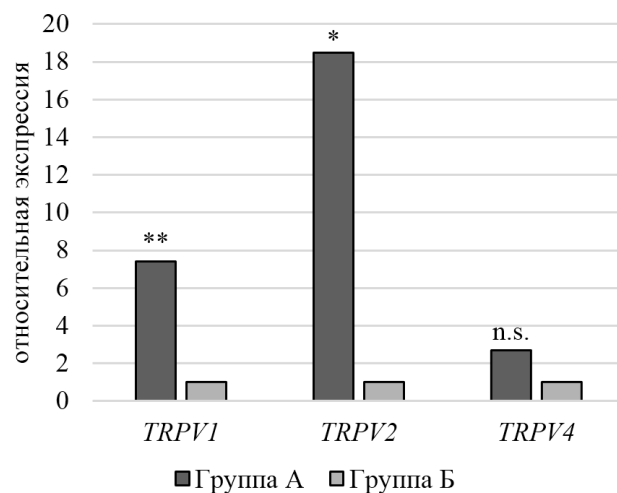


Рис. 1. Уровни относительной экспрессии генов *TRPV1*, *TRPV2* и *TRPV4* в бронхиальном эпителии у больных БА с гиперреактивностью ДП (группа А) в ответ на ингаляцию дистиллированной воды и без гиперреактивности (группа Б).

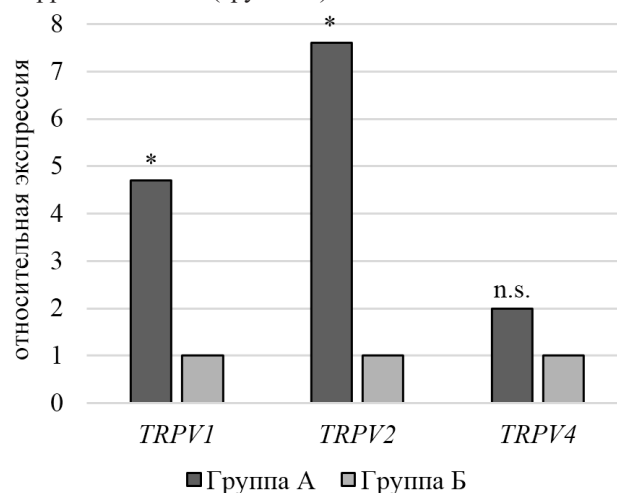


Рис. 2. Уровни относительной экспрессии генов *TRPV1*, *TRPV2* и *TRPV4* в бронхиальном эпителии у больных БА с гиперреактивностью ДП (группа А) в ответ на ингаляцию гипертонического раствора и без гиперреактивности (группа Б).

Примечание: * – $p<0,05$; ** – $p<0,01$; n.s. – статистически не значимо.

Полученные результаты позволяют предполагать вклад некоторых TRPV каналов в развитие осмотической гиперреактивности ДП у больных БА. Несмотря на то, что в респираторном эпителии преобладают рецепторы *TRPV4*, именно особенности экспрессии

TRPV1 и TRPV2 позволяют выделять их в качестве возможных рецепторов, играющих важную роль в патогенезе осмотически-индуцированного бронхоспазма.

Исследования, направленные на поиск взаимосвязи TRPV рецепторов с гиперреактивностью ДП на осмотические стимулы, являются актуальными, поскольку понимание механизмов формирования бронхоконстрикторных реакций, в частности, у больных БА, позволит персонифицировать подходы в области профилактики, прогнозирования течения и лечения заболевания. Учитывая накопленные данные о каналах TRPV и их вклад в развитие респираторной патологии, можно отметить, что перспективным является направление дальнейшего изучения данных рецепторов с применением фармакологических препаратов. В некоторых работах встречаются данные об использовании антагонистов TRPV1 для лечения кашля. Так, антагонисты SB705498 и XEN-D0501 в экспериментах *in vivo* продемонстрировали способность оказывать противокашлевой эффект и уменьшать нейрогенное воспаление [18, 19]. Однако нежелательные побочные эффекты

данных соединений ограничивают их применение и требуют проведения дополнительных экспериментов в этой области.

Таким образом, рецепторы TRPV могут рассматриваться в качестве ключевых факторов, опосредующих формирование осмотической гиперреактивности ДП. Предметом дальнейших исследований должно стать более детальное изучение их функциональной значимости при таких заболеваниях, как БА.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Источники финансирования

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

1. Global Initiative for Asthma (GINA). Global Strategy for Asthma Management and Prevention (Update 2020). URL: www.ginasthma.org.
2. Хижняк Ю.Ю., Перельман Ю.М., Колосов В.П. Сезонная динамика проходимости и реактивности дыхательных путей у больных бронхиальной астмой в условиях муссонного климата // Тихоокеанский медицинский журнал. 2009. №1(35). С.82–84.
3. Lam H.C., Li A.M., Chan E.Y., Goggins W.B. 3rd. The short-term association between asthma hospitalisations, ambient temperature, other meteorological factors and air pollutants in Hong Kong: a time-series study // *Thorax*. 2016. Vol.71, №12. P.1097–1109. doi: 10.1136/thoraxjnl-2015-208054
4. Bodaghkhan E., Mahdavian M., MacLellan C., Farrell A., Asghari S. Effects of meteorological factors on hospitalizations in adult patients with asthma: a systematic review // *Can. Respir J*. 2019. Vol.2019. Article ID 3435103. doi: 10.1155/2019/3435103
5. Zhang Y., Peng L., Kan H., Xu J., Chen R., Liu Y., Wang W. Effects of meteorological factors on daily hospital admissions for asthma in adults: a time-series analysis // *PLoS One*. 2014. Vol.9, №7. P.e102475. doi: 10.1371/journal.pone.0102475
6. Brannan J.D., Loughheed M.D. Airway hyperresponsiveness in asthma: mechanisms, clinical significance, and treatment // *Front. Physiol*. 2012. Vol.3. P.460. doi: 10.3389/fphys.2012.00460
7. Anderson S.D. Indirect challenge tests: airway hyperresponsiveness in asthma: its measurement and clinical significance // *Chest*. 2010. Vol.138, Suppl.2. P.25S–30S. doi: 10.1378/chest.10-0116
8. Liedtke W., Choe Y., Martí-Renom M.A., Bell A.M., Denis C.S., Sali A., Hudspeth A.J., Friedman J.M., Heller S. Vanilloid receptor-related osmotically activated channel (VR-OAC), a candidate vertebrate osmoreceptor // *Cell*. 2000. Vol.103, №3. P.525–535. doi:10.1016/s0092-8674(00)00143-4
9. Muraki K., Iwata Y., Katanosaka Y., Ito T., Ohya S., Shigekawa M., Imaizumi Y. TRPV2 is a component of osmotically sensitive cation channels in murine aortic myocytes // *Circ. Res*. 2003. Vol.93. P.829–838. doi:10.1161/01.RES.0000097263.10220.0C
10. Nishihara E., Hiyama T.Y., Noda M. Osmosensitivity of transient receptor potential vanilloid 1 is synergistically enhanced by distinct activating stimuli such as temperature and protons // *PLoS One*. 2011. Vol.6, №7. P.e22246. doi:10.1371/journal.pone.0022246
11. McGarvey L.P., Butler C.A., Stokesberry S., Polley L., McQuaid S., Abdullah H., Ashraf S., McGahon M.K., Curtis T.M., Arron J., Choy D., Warke T.J., Bradding P., Ennis M., Zholos A., Costello R.W., Heaney L.G. Increased expression of bronchial epithelial transient receptor potential vanilloid 1 channels in patients with severe asthma // *J. Allergy Clin. Immunol*. 2014. Vol.133, №3. P.704–712.e4. doi:10.1016/j.jaci.2013.09.016
12. Alenmyr L., Uller L., Greiff L., Högestätt E.D., Zygmunt P.M. TRPV4-mediated calcium influx and ciliary activity in human native airway epithelial cells // *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol*. 2014. Vol.114, №2. P.210–216. doi:10.1111/bcpt.12135

13. Groneberg D.A., Niimi A., Dinh Q.T., Cosio B., Hew M., Fischer A., Chung K.F. Increased expression of transient receptor potential vanilloid-1 in airway nerves of chronic cough // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2004. Vol.170, №12. P.1276–1280. doi:10.1164/rccm.200402-174OC
14. Jia Y., Wang X., Varty L., Rizzo C.A., Yang R., Correll C.C., Phelps P.T., Egan R.W., Hey J.A. Functional TRPV4 channels are expressed in human airway smooth muscle cells // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2004. Vol.287, №2. P.L272–L278. doi:10.1152/ajplung.00393.2003
15. Cai X., Yang Y.C., Wang J.F., Wang Q., Gao J., Fu W.L., Zhu Z.Y., Wang Y.Y., Zou M.J., Wang J.X., Xu D.Q., Xu D.G. Transient receptor potential vanilloid 2 (TRPV2), a potential novel biomarker in childhood asthma // *J. Asthma.* 2013. Vol.50, №2. P.209–214. doi:10.3109/02770903.2012.753454
16. Link T.M., Park U., Vonakis B.M., Raben D.M., Soloski M.J., Caterina M.J. TRPV2 has a pivotal role in macrophage particle binding and phagocytosis // *Nat. Immunol.* 2010. Vol.11, №3. P.232–239. doi:10.1038/ni.1842
17. Xie F., Xiao P., Chen D., Xu L., Zhang B. miRDeepFinder: a miRNA analysis tool for deep sequencing of plant small RNAs // *Plant Mol. Biol.* 2012. Vol.80. P.75–84. doi:10.1007/s11103-012-9885-2
18. Belvisi M.G., Birrell M.A., Wortley M.A., Maher S.A., Satia I., Badri H., Holt K., Round P., McGarvey L., Ford J., Smith J.A. XEN-D0501, a Novel Transient Receptor Potential Vanilloid 1 Antagonist, Does Not Reduce Cough in Patients with Refractory Cough // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2017. Vol.196, №10. P.1255–1263. doi:10.1164/rccm.201704-0769OC
19. Zhang L., Sun T., Liu L., Wang L. The research of the possible mechanism and the treatment for capsaicin-induced cough // *Pulm. Pharmacol. Ther.* 2018. Vol.49. P.1–9. doi:10.1016/j.pupt.2017.12.008

REFERENCES

1. Global Initiative for Asthma (GINA). Global Strategy for Asthma Management and Prevention (Update 2020). Available at: www.ginasthma.org.
2. Khizhniak J., Perelman J., Kolosov V. The seasonal dynamics of airway patency and reactivity in patients with bronchial asthma under monsoon climate conditions. *Pacific Medical Journal* 2009; (1):82–84 (in Russian).
3. Lam H.C., Li A.M., Chan E.Y., Goggins W.B. 3rd. The short-term association between asthma hospitalisations, ambient temperature, other meteorological factors and air pollutants in Hong Kong: a time-series study. *Thorax* 2016; 71(12):1097–1109. doi:10.1136/thoraxjnl-2015-208054
4. Bodaghkhani E., Mahdavian M., MacLellan C., Farell A., Asghari S. Effects of Meteorological Factors on Hospitalizations in Adult Patients with Asthma: A Systematic Review. *Can. Respir. J.* 2019; 2019:3435103. doi:10.1155/2019/3435103
5. Zhang Y., Peng L., Kan H., Xu J., Chen R., Liu Y., Wang W. Effects of meteorological factors on daily hospital admissions for asthma in adults: a time-series analysis. *PLoS One* 2014; 9(7):e102475. doi:10.1371/journal.pone.0102475
6. Brannan J.D., Loughheed M.D. Airway hyperresponsiveness in asthma: mechanisms, clinical significance, and treatment. *Front. Physiol.* 2012; 3:460. doi:10.3389/fphys.2012.00460
7. Anderson S.D. Indirect challenge tests: Airway hyperresponsiveness in asthma: its measurement and clinical significance. *Chest* 2010; 138(2 Suppl):25S–30S. doi:10.1378/chest.10-0116
8. Liedtke W., Choe Y., Martí-Renom M.A., Bell A.M., Denis C.S., Sali A., Hudspeth A.J., Friedman J.M., Heller S. Vanilloid receptor-related osmotically activated channel (VR-OAC), a candidate vertebrate osmoreceptor. *Cell* 2000; 103(3):525–535. doi:10.1016/s0092-8674(00)00143-4
9. Muraki K., Iwata Y., Katanosaka Y., Ito T., Ohya S., Shigekawa M., Imaizumi Y. TRPV2 is a component of osmotically sensitive cation channels in murine aortic myocytes. *Circ. Res.* 2003; 93(9):829–838. doi:10.1161/01.RES.0000097263.10220.0C
10. Nishihara E., Hiyama T.Y., Noda M. Osmosensitivity of transient receptor potential vanilloid 1 is synergistically enhanced by distinct activating stimuli such as temperature and protons. *PLoS One* 2011; 6(7):e22246. doi:10.1371/journal.pone.0022246
11. McGarvey L.P., Butler C.A., Stokesberry S., Polley L., McQuaid S., Abdullah H., Ashraf S., McGahon M.K., Curtis T.M., Arron J., Choy D., Warke T.J., Bradding P., Ennis M., Zholos A., Costello R.W., Heaney L.G. Increased expression of bronchial epithelial transient receptor potential vanilloid 1 channels in patients with severe asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2014; 133(3):704–712.e4. doi:10.1016/j.jaci.2013.09.016
12. Alenmyr L., Uller L., Greiff L., Högestätt E.D., Zygmunt P.M. TRPV4-mediated calcium influx and ciliary activity in human native airway epithelial cells. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2014; 114(2):210–216. doi:10.1111/bcpt.12135
13. Groneberg D.A., Niimi A., Dinh Q.T., Cosio B., Hew M., Fischer A., Chung K.F. Increased expression of transient receptor potential vanilloid-1 in airway nerves of chronic cough. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2004; 170(12):1276–1280. doi:10.1164/rccm.200402-174OC
14. Jia Y., Wang X., Varty L., Rizzo C.A., Yang R., Correll C.C., Phelps P.T., Egan R.W., Hey J.A. Functional TRPV4 channels are expressed in human airway smooth muscle cells. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2004; 287(2):L272–

L278. doi:10.1152/ajplung.00393.2003

15. Cai X., Yang Y.C., Wang J.F., Wang Q., Gao J., Fu W.L., Zhu Z.Y., Wang Y.Y., Zou M.J., Wang J.X., Xu D.Q., Xu D.G. Transient receptor potential vanilloid 2 (TRPV2), a potential novel biomarker in childhood asthma. *J. Asthma* 2013; 50(2):209–214. doi:10.3109/02770903.2012.753454

16. Link T.M., Park U., Vonakis B.M., Raben D.M., Soloski M.J., Caterina M.J. TRPV2 has a pivotal role in macrophage particle binding and phagocytosis. *Nat. Immunol.* 2010; 11(3):232–239. doi:10.1038/ni.1842

17. Xie F., Xiao P., Chen D., Xu L., Zhang B. miRDeepFinder: a miRNA analysis tool for deep sequencing of plant small RNAs. *Plant Mol. Biol.* 2012; 80:75–84. doi:10.1007/s11103-012-9885-2

18. Belvisi M.G., Birrell M.A., Wortley M.A., Maher S.A., Satia I., Badri H., Holt K., Round P., McGarvey L., Ford J., Smith J.A. XEN-D0501, a Novel Transient Receptor Potential Vanilloid 1 Antagonist, Does Not Reduce Cough in Patients with Refractory Cough. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2017; 196(10):1255–1263. doi:10.1164/rccm.201704-0769OC

19. Zhang L., Sun T., Liu L., Wang L. The research of the possible mechanism and the treatment for capsaicin-induced cough. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 2018; 49:1–9. doi:10.1016/j.pupt.2017.12.008

Информация об авторах:

Author information:

Олеся Олеговна Котова, младший научный сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: foxy_voxy_on@mail.ru

Olesya O. Kotova, MD, Junior Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: foxy_voxy_on@mail.ru

Денис Евгеньевич Наумов, канд. мед. наук, зав. лабораторией, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: denn1985@bk.ru

Denis E. Naumov, MD, PhD (Med.), Head of Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: denn1985@bk.ru

Евгения Юрьевна Афанасьева, младший научный сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: evgeniyananev@yandex.ru

Evgeniya Yu. Afanas'eva, MD, Junior Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: evgeniyananev@yandex.ru

Андрей Николаевич Оди́рев, д-р мед. наук, зав. лабораторией, лаборатория профилактики неспецифических заболеваний легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: bulleten@mail.ru

Andrey N. Odireev, MD, PhD, D.Sc. (Med.), Head of Laboratory of Prophylaxis of Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: bulleten@mail.ru

Юлий Михайлович Перельман, член-корреспондент РАН, д-р мед. наук, профессор, зам. директора по научной работе, зав. лабораторией, лаборатория функциональных методов исследования дыхательной системы, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: jperelman@mail.ru

Juliy M. Perelman, MD, PhD, D.Sc. (Med.), Corresponding member of RAS, Professor, Deputy Director on Scientific Work, Head of Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: jperelman@mail.ru

Поступила 16.11.2020
Принята к печати 27.11.2020

Received November 16, 2020
Accepted November 27, 2020

УДК 616.155.34:616.2-001.19:611.23-018.7]616.248-036.17

DOI: 10.36604/1998-5029-2020-78-47-55

РОЛЬ НЕЙТРОФИЛОВ И ЭПИТЕЛИЯ БРОНХОВ В ПОТЕРЕ КОНТРОЛЯ НАД БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ И ФОРМИРОВАНИИ РЕАКЦИИ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ НА ХОЛОДОВОЙ СТИМУЛ

А.Г.Приходько, А.Б.Пирогов, Ю.М.Перельман

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

РЕЗЮМЕ. Введение. Нейтрофилы и бронхиальный эпителий принимают активное участие в генерации оксидативного стресса и прогрессировании воспаления дыхательных путей у больных бронхиальной астмой (БА). **Цель.** Изучить роль нейтрофилов и эпителия бронхов как факторов, способствующих потере контроля над астмой и формированию реакции дыхательных путей на холодovou стимул. **Материалы и методы.** Обследовано 146 больных с диагнозом персистирующей БА. Проведён анкетный опрос по вопроснику Asthma Control Test (ACT); исследование функции внешнего дыхания методом спирометрии с последующим сбором индуцированной мокроты; на следующий день выполнена проба 3-минутной изокапнической гипервентиляции холодным (-20°C) воздухом (ИГХВ) с последующим сбором спонтанно продуцируемой мокроты. В мокроте оценивали цитоз, клеточный состав, содержание гликопротеинов в бокаловидном эпителии. В 1 группу ($n=89$) вошли лица с неконтролируемым ($\text{ACT}<20$ баллов), во 2 группу ($n=57$) – с контролируемым ($\text{ACT}>20$ баллов) течением БА. **Результаты.** Больные 1 группы в сравнении со 2 группой имели более высокий прирост ОФВ_1 на введение β_2 -агониста короткого действия – 11,0 (5,4; 21,65) и 7,55 (4,11; 13,8)%, соответственно ($p=0,042$) и более выраженную реакцию на пробу ИГХВ – -11,0 (-17,6; -2,5) и -6,0 (-12,0; -2,0)% ($p=0,031$). У больных 1 группы после пробы ИГХВ наблюдался прирост числа нейтрофилов с $45,98\pm 2,17$ до $52,0\pm 1,78\%$ ($p=0,0013$) и повышение концентрации гликопротеинов в мукоцитах с $37,9\pm 3,8$ до $45,6\pm 4,2\%$ ($p=0,002$) на фоне тенденции к повышению содержания бокаловидных клеток и уменьшению количества неповрежденных бронхиальных эпителиоцитов (с $4,8\pm 0,32$ до $3,9\pm 0,30\%$; $p=0,017$). Корреляционный анализ показал взаимосвязь между уровнем гликопротеинов бокаловидных клеток и исходным содержанием нейтрофилов в мокроте ($r=-0,49$; $p=0,039$), а также между степенью выраженности реакции дистальных бронхов ($\Delta\text{МОС}_{50}$) на холодovou стимул и содержанием нейтрофилов в мокроте после пробы ($r=0,36$; $p=0,01$). **Заключение.** При остром холодovou воздействии у больных неконтролируемой БА в воспалительном паттерне наблюдаются признаки стимуляции нейтрофильного сегмента гранулоцитов и структурной перестройки бронхиального эпителия. Структурные изменения пула нейтрофилов и эпителиальной паренхимы бронхов, свидетельствующие об эскалации провоспалительной активности, могут лежать в основе возникновения и поддержания реакции дыхательных путей на холодovou стимул и потери контроля над БА.

Ключевые слова: бронхиальная астма, холодovou гиперреактивность дыхательных путей, нейтрофилы, бронхиальный эпителий, неконтролируемое течение астмы.

ROLE OF NEUTROPHILS AND BRONCHIAL EPITHELIUM IN LOSS OF CONTROL OF BRONCHIAL ASTHMA AND FORMATION OF RESPIRATORY TRACT RESPONSE TO COLD STIMULUS

A.G.Prikhodko, A.B.Pirogov, J.M.Perelman

Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

Контактная информация

Анна Григорьевна Приходько, д-р мед. наук, главный научный сотрудник, лаборатория функциональных методов исследования дыхательной системы, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22. E-mail: prih-anya@ya.ru

Correspondence should be addressed to

Anna G. Prikhodko, MD, PhD, D.Sc. (Med.), Main Staff Scientist, Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation. E-mail: prih-anya@ya.ru

Для цитирования:

Приходько А.Г., Пирогов А.Б., Перельман Ю.М. Роль нейтрофилов и эпителия бронхов в потере контроля над бронхиальной астмой и формировании реакции дыхательных путей на холодovou стимул // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2020. Вып.78. С. 47–55. DOI: 10.36604/1998-5029-2020-78-47-55

For citation:

Prikhodko A.G., Pirogov A.B., Perelman J.M. Role of neutrophils and bronchial epithelium in loss of control of bronchial asthma and formation of respiratory tract response to cold stimulus. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* = *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2020; (78):47–55 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2020-78-47-55

SUMMARY. Introduction. Neutrophils and bronchial epithelium are actively involved in the generation of oxidative stress and the progression of airway inflammation in patients with asthma. **Aim.** To study the role of neutrophils and bronchial epithelium as factors contributing to the loss of control over asthma and the formation of the airway response to a cold stimulus. **Materials and methods.** A total of 146 patients with a diagnosis of persistent asthma were examined. A survey was conducted on the Asthma Control Test (ACT) questionnaire; a study of the lung function by spirometry with subsequent collection of induced sputum; the next day, a 3-minute isocapnic hyperventilation by cold (-20°C) air (IHCA) was performed, followed by collection of spontaneously produced sputum. In the sputum, cytosis, cellular composition, and glycoprotein concentration in the goblet-like epithelium were assessed. Group 1 (n=89) included persons with uncontrolled (ACT<20 points), group 2 (n=57) – with controlled (ACT>20 points) asthma. **Results.** Patients of group 1 in comparison with group 2 had a higher increase in FEV₁ to the inhalation of a short-acting β_2 -agonist – 11.0 (5.4; 21.65) vs. 7.55 (4.11; 13.8)%, respectively (p=0.042) and a more pronounced reaction to the IHCA test – -11.0 (-17.6; -2.5) vs. -6.0 (-12.0; -2.0)% (p=0.031). In patients of group 1, after the IHCA test, an increase in the number of neutrophils was observed from 45.98±2.17 to 52.0±1.78% (p=0.0013) and an increase in the concentration of glycoproteins in mucocytes from 37.9±3.8 to 45.6±4.2% (p=0.002) against the background of a tendency towards an increase in the concentration of goblet cells and a decrease in the number of intact bronchial epithelial cells (from 4.8±0.32 to 3.9±0.30%; p=0.017). Correlation analysis showed the relationship between the level of goblet cell glycoproteins and the initial concentration of neutrophils in sputum (r=-0.49; p=0.039), as well as between the severity of the reaction of the distal bronchi (Δ MEF₅₀) to a cold stimulus and the concentration of neutrophils in sputum after IHCA (r=0.36; p=0.01). **Conclusion.** The signs of stimulation of the neutrophilic segment of granulocytes and structural rearrangement of the bronchial epithelium in the sputum of patients with uncontrolled asthma after acute cold exposure were determined. Structural changes in the pool of neutrophils and epithelial parenchyma of the bronchi, indicating an escalation of pro-inflammatory activity, may underlie the emergence and maintenance of the airway response to a cold stimulus and loss of asthma control.

Key words: bronchial asthma, cold airway hyperresponsiveness, neutrophils, cytokines, bronchial epithelium, uncontrolled asthma.

Клинический феномен холодовой гиперреактивности дыхательных путей (ХГДП), выявляемый у больных бронхиальной астмой (БА) в экологически неблагоприятных условиях Сибири и Дальнего Востока под воздействием на дыхательную систему холодного триггера, ассоциируется с утяжелением течения астмы, сложной проблемой контроля над болезнью и активацией смешанного паттерна воспаления бронхов. Последний отличается многочисленностью пула нейтрофилов, их выраженной пероксидазной активностью, высокими показателями деструкции и цитолиза [1, 2].

Установлено, что повышенный уровень нейтрофилов регистрируется в бронхоальвеолярном лаваже у терапевтически резистентных больных БА, получавших высокие дозы системных кортикостероидов, в то время как у пациентов, не получавших последние, преобладала эозинофилия [3]. В период тяжелых обострений, фатальных атак астмы в дыхательных путях доминирует нейтрофильное воспаление [3], которое усугубляет течение болезни, ограничивает возможность достижения контроля над болезнью. Как показали наши исследования, нейтрофильный характер воспаления бронхов у больных БА связан с более значимым нарушением бронхиальной проходимости и большей частотой выявления реакции дыхательных путей на холодный воздух [1, 4].

Вовлечение нейтрофильного сегмента гранулоцитов под воздействием различных триггеров генерирует в бронхах, помимо оксидативного стресса, другие медиаторы клеточного окисления, представляющие собой сигнальные молекулы, регулирующие активность ядерного фактора NF-kB – одного из главных

транскрипционных факторов, отвечающего за адаптивные реакции клеток [5, 6]. NF-kB ассоциирован с активностью воспаления при астме и экспрессией провоспалительных цитокинов, которые активируют каскад воспалительных реакций, обуславливающих тяжелое клиническое течение БА [6]. В случае сопутствующей ХГДП снижение противовирусного иммунитета, реализующееся за счет подавления антивирусной и иммуномодуляторной активности IFN путём активации NF-kB и экспрессии генов провоспалительных цитокинов [7], может являться причиной персистенции инфекции в бронхиальном дереве и рассматривается как один из потенциальных независимых механизмов неконтролируемого течения болезни [6]. Бронхиальный эпителий, активирующий NF-kB, а также экспрессирующий гены провоспалительных цитокинов, обладает способностью подавлять активность IFN респираторного тракта [7]. С помощью иммуногистохимических методов в бронхиальном эпителии больных БА зарегистрированы вдвое более частые признаки активированного состояния NF-kB по сравнению с контролем [6]. В результате активации NF-kB эпителий индуцирует гиперреактивность бронхов, опосредованную эпителиальной продукцией бронхоконстрикторных белков [8].

Ввиду ключевой роли нейтрофилов и непосредственного участия бронхиального эпителия в инициации повреждающих эффектов оксидативного стресса, прогрессировании воспаления дыхательных путей у больных БА, возникает вопрос о возможной связи между отсутствием контроля заболевания и структурно-функциональными особенностями пула нейтрофилов и эпителиальной выстилки бронхов.

Цель работы – оценить роль нейтрофилов и эпителия бронхов как факторов, способствующих потере контроля над астмой и формированию реакции дыхательных путей на холодовой стимул.

Материалы и методы исследования

Исследование проводилось с соблюдением международных принципов проведения медицинских исследований с участием человека на основании разрешения локального комитета по биомедицинской этике Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания. В наблюдательном исследовании приняли участие 146 больных с диагнозом персистирующей БА [9], обоего пола, в возрасте от 18 до 60 лет. Набор больных осуществлялся в сезон года с низкими температурами окружающего воздуха (2013-2018 гг.).

Критерии включения: наличие БА, длительность болезни более ≥ 1 года, объём форсированного выдоха за первую секунду ($ОФВ_1$) более 75% от должной величины; отсутствие сопутствующих заболеваний, способных повлиять на результаты проводимых тестов, письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Дизайн исследования включал клинический осмотр больных и оценку тяжести по данным анкетного опроса по вопроснику Asthma Control Test (Quality Metric Inc., 2002); выполнялось спирометрическое исследование (Easy on PC, ndd Medizintechnik AG, Швейцария) с оценкой параметров $ОФВ_1$, $МОС_{50}$, $МОС_{25-75}$. Бронходилатационный тест проводили путем ингаляции аэрозоля сальбутамола (400 мкг), $ОФВ_1$ регистрировали до и через 15 минут после введения β_2 -агониста. Затем проводили сбор мокроты путём ультразвуковой ингаляции 3-, 4- и 5%-го раствора хлорида натрия сеансами по 7 минут, используя небулайзер NE-U-17 (OMRON, Япония) [10]. На следующий день выполняли бронхопровокационную пробу с 3-минутной изокапнической гипервентиляцией холодным (-20°C) воздухом (ИГХВ) [11] с регистрацией параметров бронхиальной проходимости до и после ИГХВ ($\Delta ОФВ_1$, %, $\Delta МОС_{50}$, %, $\Delta МОС_{25-75}$, %). После теста ИГХВ осуществляли сбор спонтанно продуцируемой мокроты.

Исследование мокроты проводили не позднее 2 часов после её получения. В образцах мокроты оценивали цитоз, подсчитывая число клеток в 1 мкл. В камере Горяева определяли количество клеток в единице нативного материала мокроты стандартным методом. С целью уточнения состава клеток мокроту (50 мкл) наносили на предметное стекло, подогретое до 37°C , просушивали в вентилируемом термостате ТМ-2 в течение 5-10 минут при 37°C , мазки фиксировали в парах 40% раствора формалина (10 минут), окрашивали 4-5% водным красителем Романовского-Гимза (рН 6,8). Состав клеточных элементов изучали, используя светооптический иммерсионный микроскоп, с подсчётом не менее 400 клеток в 100 полях зрения, в

центральных и периферических частях препарата. Найденное число клеток выражали в процентах к общему количеству [12].

Для изучения содержания гликопротеинов в бокаловидном эпителии после фиксации препаратов в формалине использовали метод окраски цитологических мазков альциановым синим, селективно выявляющим муцины (гликопротеины, кислые гликозаминогликаны – ГАГ) в цитоплазме бокаловидных клеток [12]. Гликопротеины и ГАГ в бокаловидном эпителии оценивали путём подсчёта количества окрашенных альциановым синим клеток, выражали в процентах.

Статистический анализ полученного материала проводили с использованием программы «Автоматизированная система диспансеризации» [13] на основе стандартных методов вариационной статистики. При нормальном типе распределения использовали непарный и парный критерий t (Стьюдента), при распределении данных, отличных от нормального, применяли критерии Колмогорова-Смирнова и Манна-Уитни. Описательная статистика количественных признаков представлена средним арифметическим и стандартной ошибкой среднего арифметического ($M \pm m$), а также медианой и квартилями $Me(Q1; Q3)$. С целью определения степени связи между двумя случайными величинами проводили классический корреляционный анализ, а также непараметрический корреляционный анализ по Спирмену. Для всех величин принимали во внимание уровни значимости (p) менее 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

Распределение больных в группы проводилось по результатам анкетного опроса Asthma Control Test (ACT) по критерию контроля заболевания. В 1 группу ($n=89$) вошли лица с неконтролируемым (ACT < 20 баллов), во 2 группу ($n=57$) – с контролируемым (ACT > 20 баллов) течением БА (табл. 1). Больные с низким контролем заболевания имели более высокую лабильность бронхов как на введение β_2 -агонистов короткого действия, так и при стимуляции дыхательных путей холодным воздухом (табл. 1). Частота выявления ХГДП в 1 группе составила 48%, во 2 группе – 32% ($\chi^2=3,34$; $p>0,05$).

При отсутствии межгрупповых статистических различий в базовых показателях вентиляционной функции легких, в 1 группе обнаружена корреляционная связь индекса курильщика (ИК, пачка/лет) с проходимостью дистальных бронхов ($МОС_{25-75}$, %) ($r=-0,21$; $p=0,013$), а также с выраженностью реакции дыхательных путей на холодовой стимул ($\Delta ОФВ_1$, %) ($r=-0,42$; $p=0,008$). Прогрессирование нарушений функции внешнего дыхания при табакокурении поддерживается ремоделированием бронхов, обусловленным оксидативным повреждением, бокаловидно-клеточной гиперплазией и плоскоклеточной метаплазией бронхиального эпителия, продукцией провоспалительных цитокинов, разрушением соединительнотканного матрикса

нейтрофильными протеиназами, интерстициальным фиброзом, гиперсекрецией бронхиальной слизи и мукоцилиарной недостаточностью [14]. В выполненных нами ранее работах показано, что бронхиальный и бокаловидный эпителий дыхательных путей курящих больных БА с ХГДП подвержен значительной дезорганизации и активации деструктивно-цитолитических процессов, сопровождающихся увеличением секреторной активности бокаловидных клеток [15]. Интенсификация бокаловидно-клеточной секреции гликопротеинов сопряжена с повышением пероксидазной активности гранулоцитов, инфильтрирующих дыхательные пути курящих пациентов и нейтрофилией воспаления, способствующей появлению и поддержанию ХГДП, ухудшению проходимости бронхов с утратой контроля над болезнью [15].

После проведения бронхопровокации холодным воздухом в обеих группах наблюдалось увеличение ци-

тоза в мокроте (табл. 2). Для больных с неконтролируемым течением астмы был характерен прирост числа нейтрофилов после пробы ИГХВ, тогда как у больных 2 группы в мокроте отмечалось увеличение эозинофилов. В результате происходящих изменений в численности гранулоцитов в мокроте больных обеих групп наблюдалось пропорциональное снижение числа макрофагов (табл. 2). Кроме того, в обеих группах после пробы регистрировалось снижение числа клеток бронхиального эпителия, что служило признаком разрушения, деструкции и некроза клеточных элементов дезинтегрированного эпителиального пласта, и рост числа бокаловидных эпителиоцитов, в большей степени у больных 2 группы (табл. 2). Важно отметить, что схожая картина в динамике показателей после пробы ИГХВ наблюдалась при отдельном анализе группы больных с ХГДП и неконтролируемым течением болезни (рис.).

Таблица 1

Клинико-функциональная характеристика больных БА

Показатель	1 группа (n=89)	2 группа (n=57)	p
Возраст, лет	38,8±1,2	40,4±1,5	>0,05
Курящих лиц, %	57	62	$\chi^2=0,11$; p>0,05
АСТ, баллы	13,3±0,4	22,8±0,3	<0,0001
ОФВ ₁ /ЖЕЛ, %	73,0±1,0	74,0±1,2	>0,05
ОФВ ₁ , %	89,7±1,8	94,9±2,2	>0,05
МОС ₂₅₋₇₅ , %	64,6±2,7	72,1±3,6	>0,05
ΔОФВ ₁ игхв, %	-11,0 (-17,6; -2,5)	-6,0(-12,0; -2,0)	0,031
ΔМОС ₅₀ игхв, %	-16,9±2,38	-16,3±2,15	>0,05
ΔМОС ₂₅₋₇₅ игхв, %	-17,2±2,4	-15,5±2,2	>0,05
ΔОФВ ₁ бл, %	11,0 (5,4; 21,65)	7,55 (4,11; 13,8)	0,042

Примечание: Δ, игхв – изменение показателя в ответ на пробу с ИГХВ; Δ, бл – изменение показателя в ответ на введение бронхолитика; p – значимость различий значений показателей между группами пациентов с неконтролируемым и контролируемым течением БА.

Таблица 2

Цитологическое исследование мокроты больных БА

Показатель	1 группа	p	2 группа	p
Цитоз, клеток/1 мкл	<u>2,26±0,20</u> 2,99±0,19	0,001	<u>2,22±0,23</u> 2,71±0,29	0,044
Нейтрофилы, %	<u>45,98±2,17</u> 52,0±1,78	0,0013	<u>45,8±2,45</u> 48,9±2,35	>0,05
Эозинофилы, %	<u>11,6±1,6</u> 12,7±1,7	>0,05	<u>10,5±1,6</u> 17,2±3,0	0,038
Макрофаги, %	<u>34,1±2,3</u> 27,3±1,5	0,002	<u>34,8±2,7</u> 25,7±1,7	0,00001
Бронхиальный эпителий, %	<u>4,8±0,32</u> 3,9±0,30	0,017	<u>4,4±0,33</u> 3,8±0,32	>0,05
Бокаловидные клетки эпителия, %	<u>0,31±0,06</u> 0,32±0,04	>0,05	<u>0,30±0,08</u> 0,59±0,09	0,025
Гликопротеины в цитоплазме бокаловидных клеток эпителия, %	<u>37,9±3,8</u> 45,6±4,2	0,002	<u>37,2±3,5</u> 44,0±4,0	0,04

Примечание: в числителе базовые значения показателя, в знаменателе – после пробы ИГХВ; p – значимость различий между числителем и знаменателем.

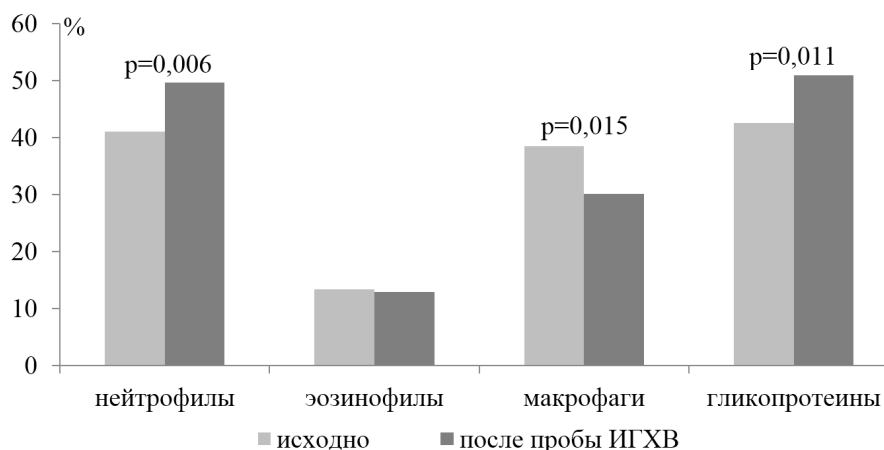


Рис. Динамика изменений клеточного состава и гликопротеинов мокроты после пробы ИГХВ у больных БА с ХГДП и неконтролируемым течением болезни.

Увеличение числа клеток бокаловидного эпителия, наиболее вероятно, было связано с усиленной потребностью в протеогликанах в процессе развития реакции на холодовое воздействие, о чем свидетельствовало повышение содержания гликопротеинов в цитоплазме бокаловидных клеток в ответ на пробу ИГХВ (табл. 2). Обнаружена тесная связь между ростом числа бокаловидных клеток и усилением реакции мелких дыхательных путей ($\Delta\text{МОС}_{25-75}$ игхв) на холодовую бронхопровокацию ($r=-0,44$, $p=0,006$).

Сведения, указывающие на стимуляцию муциновой активности эпителия под влиянием холода, подтверждаются ранее полученными нами данными, касающимися структурной организации и секреторной активности железистого эпителия у больных БА с ХГДП. Так, было показано, что в ответ на воздействие холодового стимула происходит увеличение числа бронхиальных эпителиоцитов, дающих положительную реакцию при окраске на ГАГ, установлена корреляция между активацией синтеза и накопления ГАГ в мукоцитах, интенсификацией эпителиальной секреции и усилением бронхиальной обструкции. Кроме того, было доказано, что увеличение концентрации гликопротеинов в эпителии приводит к усилению реакции дыхательных путей на холод [16].

У больных с неконтролируемым течением БА (1 группа) обнаружена тесная взаимосвязь между уровнем гликопротеинов бокаловидных клеток и исходным содержанием нейтрофилов в мокроте ($r=-0,49$; $p=0,039$), позволившая констатировать зависимость продукции муцинов в бокаловидном сегменте эпителия от количества нейтрофилов в воспалительном паттерне бронхов. Важно отметить, что у этих же больных прослеживалась связь между степенью выраженности реакции дистальных бронхов ($\Delta\text{МОС}_{50}$ игхв) на холодовый стимул и содержанием нейтрофилов в мокроте после пробы ($r=0,36$; $p=0,01$).

От эскалации функциональной активности, дегрануляции и деструкции нейтрофилов бронхиального инфильтрата у больных БА зависит интенсификация деструкции бронхиального эпителия, развивающаяся

под влиянием холодового стимула и приводящая к ремоделированию бронхов [2]. Деструкция эпителия, наиболее выраженная у пациентов со смешанным паттерном воспаления бронхов, наряду с другими морфологическими характеристиками ремоделирования слизистой оболочки, оказывает негативное влияние на проходимость дыхательных путей и клинические проявления БА, служит неблагоприятным прогностическим фактором течения болезни [2].

Известно, что экзоцитоз, или секреция нейтрофилами лизосомальных ферментов осуществляется не только при физиологической дегрануляции, но и в результате деструкции и цитолиза клеток, которые являются патогномичными для оксидативного стресса, и дифференциальным признаком которых служит вакуолизация и фрагментация цитоплазмы [17]. При оксидативном стрессе наиболее важная роль среди ферментов, секретируемых лизосомами нейтрофилов, принадлежит миелопероксидазе из класса оксидоредуктаз, катализирующей синтез высоко-реакционно-способных галогенсодержащих соединений, активных форм галогенов [1, 4, 17]. Экспортируемая нейтрофилами генерация активных форм кислорода и галогенов может стать причиной свободно-радикального повреждения крист митохондрий и разрушения эндоплазматического ретикулума бронхиального эпителия с последующей гибелью клеток [18]. При этом сигналы апоптоза могут передаваться в эпителий не от лигирования рецептора смерти до активации каспазного каскада, а путем дезэнергизации эпителиоцитов [18].

Окислительное повреждение эпителия дыхательных путей приводит к экзоцитозу из интраэпителиально расположенных нервных окончаний – С-волокон «третьей» сигнальной нервной системы (NANC) субстанции Р и нейрокининов А и В – нейротрансмиттеров с выраженными бронхоконстрикторным и вазодилаторным эффектами, активирующих тучные клетки, макрофаги, Т- и В-лимфоциты. Данные нейротрансмиттеры усиливают сосудистую адгезию и являются хемоаттрактантами для эозинофилов и нейтрофилов. Происходит ингибирование синтезируе-

мого нейросекреторными клетками бронхиального покрова иммуномодулирующего бронхо- и вазодилатора – вазоактивного интестинального пептида (VIP), нарушение выработки PGE₂, экспрессируются поверхностные клеточные рецепторы, провоспалительные цитокины, хемоаттрактанты, GMCSF [19]. Доказано, что эпителиальные клетки из бронхобиоптатов, полученных от больных БА, отличаются значительным усилением продукции GMCSF и экспрессии провоспалительных IL-6, IL-8, резко возрастающей под воздействием поллютантов [20].

С помощью IL-8, ассоциирующегося с сочетанием у астматиков бронхиального нейтрофильного и системного воспаления [21, 22], осуществляется праймирование респираторного взрыва нейтрофилов [23]. В качестве хемокина IL-8 играет ключевую роль в хемоаттракции нейтрофилов: стимулирует миграцию нейтрофилов из кровеносного русла в очаг воспаления, повышает в них концентрацию внутриклеточного Ca²⁺, что обеспечивает движение лейкоцитов и активирует пентозофосфатный шунт в этих клетках, вызывая продукцию свободных радикалов, дегрануляцию и экзоцитоз нейтрофильных ферментов [24]. Интеграция IL-8 с IL-1, GMCSF, TNF α и другими провоспалительными цитокинами составляет цитокиновый фон, активирующий нейтрофилы [24], которые, в свою очередь, самостоятельно синтезируют и продуцируют цитокины – нейтрофилокины (GMCSF, TNF α , IL-1, IL-6, IL-8), участвующие в кооперативном взаимодействии клеток фагоцитарной системы. Последние действуют паракринно на макрофаги, аутокринно – на нейтрофилы [25]. При этом экспрессия IL-8, IL-10, TNF α и других хемокинов осуществляется под контролем NF-kB, оказывающим стимулирующее влияние на многочисленные гены, задействованные в иммунном, острофазовом и воспалительном ответах [5].

Индукция NF-kB является основополагающим моментом, объединяющим оксидантные функции нейтрофилов и провоспалительную активность эпителия бронхов при астме и играющим важную роль в патогенезе астматической бронхоконстрикции. Вследствие индукции NF-kB бронхиальными эпителиоцитами бронхоальвеолярные смывы у больных БА содержат повышенное содержание IL-1 и IL-1b [8]. Согласно наблюдениям *in vitro*, в дыхательных путях трансгенных мышей, экспрессирующих индуцируемую доксициклином конститутивно активную версию ИКК- β , приводящую к активации NF-kB, происходит усиление гиперчувствительности эпителиальных клеток, утолщение лейомиоцитов мышечного слоя при отсутствии эозинофилии слизистой оболочки и режима сенсibilизации к антигену. С ингибированием экспрессии NF-kB бронхиальным эпителием связано ослабление аллергического воспаления дыхательных путей [26].

Базирующийся на индукции NF-kB провоспалительный синергизм пула нейтрофилов и эпителия дыхательных путей, которые принимают участие в

формировании реакции дыхательных путей на холодной стимул можно описать дискриминантной моделью в виде следующего уравнения, построенного исходя из совокупности всех проанализированных показателей больных с неконтролируемым и контролируемым течением астмы:

$$D = -3,63 \times BЭ + 1,48 \times H,$$

где D – дискриминантная функция с граничным значением 53,1; BЭ – число клеток бронхиального эпителия в мокроте (в %); H – базовое содержание нейтрофилов в мокроте (в %).

Превышение граничного значения свидетельствует о плохом контроле болезни, связанном с явлениями нейтрофилии мокроты. Построенное уравнение подтверждает влияние высокого содержания нейтрофилов и клеток бронхиального эпителия в мокроте на уровень контроля астмы и служит свидетельством предикторной роли пула нейтрофилов и эпителиальной выстилки дыхательных путей в характере клинического течения болезни. Эскалация содержания нейтрофилов, как доминирующих продуцентов окислителей и свободных радикалов в воспалительном паттерне бронхов, в сочетании с интенсификацией деструкции и провоспалительной активности бронхиального эпителия, может рассматриваться в качестве фактора, не только участвующего в появлении и потенцировании реакции бронхов на холод, но и как фактора, способствующего потере контроля над болезнью.

Выводы

1. В результате острого холодого воздействия, у больных с неконтролируемой астмой в воспалительном паттерне отмечаются признаки стимуляции нейтрофильного сегмента гранулоцитов, проявляющиеся в увеличении количества нейтрофилов мокроты, усилении деструкции и секреторной активности бронхиального эпителия, снижении содержания эпителиальных клеток с неповрежденной структурой, повышении концентрации гликопротеинов в бокаловидных клетках.

2. Структурные изменения пула нейтрофилов и эпителиальной паренхимы бронхов, свидетельствующие об эскалации провоспалительной активности, могут лежать в основе возникновения и поддержания реакции дыхательных путей на холодого стимул и потере контроля над астмой.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Источники финансирования

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

1. Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Зиновьев С.В. Влияние нейтрофильного компонента бронхиального воспаления на уровень контроля болезни и функцию внешнего дыхания у больных бронхиальной астмой // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2016. Вып.61. С.16–24. doi: 10.12737/21434
2. Пирогов А.Б., Гассан Д.А., Зиновьев С.В., Приходько А.Г., Колосов В.П., Перельман Ю.М. Деструкция эпителия бронхов у больных тяжелой бронхиальной астмой при различных паттернах воспаления и холодовой гиперреактивности дыхательных путей // Терапевтический архив. 2019. Т.91, №3. С.31–35. doi: 10.26442/00403660.2019.03.000091
3. Огородова Л.М., Селиванова П.А., Геренг Е.А., Богомяков В.С., Волкова Л.И., Плешко Р.И. Патоморфологическая характеристика нестабильной бронхиальной астмы (фенотип brittle) // Терапевтический архив. 2008. Т.80, №3. С.39–43.
4. Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Зиновьев С.В. Динамика воспалительно-клеточного профиля бронхов и нейтрофильного компонента воспаления у больных бронхиальной астмой с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей при применении базисной противовоспалительной терапии // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2016. Вып.60. С.16–22. doi: 10.12737/19935
5. Маянский А.Н., Маянский Н.А., Заславская М.И. Нуклеарный фактор-кВ и воспаление // Цитокины и воспаление. 2007. Т.6. №2. С.3–9.
6. Куликов Е.С., Огородова Л.М., Фрейдин М.Б., Деев И.А., Селиванова П.А., Федосенко С.В., Кириллова Н.А. Молекулярные механизмы тяжелой бронхиальной астмы // Молекулярная медицина. 2013. №2. С.24–32.
7. Wei L., Sandbulte M.R., Thomas P.G., Webby R.J., Homayouni R., Pfeffer L.M. NFkappa B negatively regulates interferon-induced gene expression and anti-influenza activity // J. Biol. Chem. 2006. Vol.281, №17. P.11678–11684. doi: 10.1074/jbc.m513286200
8. Sheller J.R., Polosukhin V.V., Mitchell D., Cheng D-S., Stokes Peebles R., Blackwell T.S. NF-kB induction in airway epithelium increases lung inflammation in allergen challenged mice // Exp. Lung Res. 2009. Vol.35, №10. P.883–895. doi: 10.3109/01902140903019710
9. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (2018 update). URL: www.ginasthma.org.
10. Vakakos P., Schleich F., Alchanatis M., Louis R. Induced sputum in asthma: From bench to bedside // Curr. Med. Chem. 2011. Vol.18, №10. P.1415–1422. doi: 10.2174/092986711795328337
11. Перельман Ю.М., Приходько А.Г. Методика комбинированной диагностики нарушений кондиционирующей функции и холодовой гиперреактивности дыхательных путей // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2002. Вып.12. С.22–28.
12. Медицинские лабораторные технологии: руководство по клинической лабораторной диагностике в 2 т. / под ред. А.И.Карпищенко. 3-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. 472 с.
13. Ульянычев Н.В. Системность научных исследований в медицине. Saarbrücken: LAP LAMBERT, 2014. 140 с.
14. Краснова Ю.Н. Влияние табачного дыма на органы дыхания // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2015. №6. С.11–16.
15. Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Колосов В.П., Перельман Ю.М. Взаимосвязь курения с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей и течением деструктивно-цитолитических процессов в бокаловидном эпителии бронхов больных бронхиальной астмой // Бюллетень сибирской медицины. 2019. Т.18, №3. С.90–100. doi:10.20538/1682-0363-2019-3-90-100
16. Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Зиновьев С.В., Сян Дун Чжоу, Ци Ли. Изменения бокаловидного эпителия в ответ на холодовую бронхопровокацию у больных бронхиальной астмой с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2018. Вып.68. С.8–16. doi: 10.12737/article_5b188b4bad3200.10559927
17. Пирогов А.Б., Зиновьев С.В., Перельман Ю.М., Семиреч Ю.О., Семенова Г.В., Колосов А.В. Активность миелопероксидазы нейтрофильных и эозинофильных лейкоцитов индуцированной мокроты у больных бронхиальной астмой с холодовой бронхиальной гиперреактивностью // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2014. Вып.53. С.50–56.
18. Kuwano K. Epithelial cell apoptosis and lung remodeling // Cell. Mol. Immunol. 2007. Vol.4. №6. P.419–429.
19. Конищева А.Ю., Гервасиева В.Б., Лаврентьева Е.Е. Особенности структуры и функции респираторного эпителия при бронхиальной астме // Пульмонология. 2012. Т.22, №5. С.85–91. doi: 10.18093/0869-0189-2012-0-5-85-91
20. Hashimoto S., Matsumoto K., Gon Y., Takahashi N. Update on airway inflammation and remodeling in asthma // Allergy Clin. Immunol. Int. 2007. Vol.19, №5. P.178–174. doi: 10.1027/0838-1925.19.5.178

21. Puthothu B., Krueger M., Heinze J., Forster J., Heinzmann A. Impact of IL8 and IL8-receptor alpha polymorphisms on the genetics of bronchial asthma and severe RSV infections // *Clin. Mol. Allergy*. 2006. Vol.4. Article number 2. doi: 10.1186/1476-7961-4-2
22. Wood L.G., Baines K.I., Fu J. Scott H.A., Gibson P.G. The neutrophilic inflammatory phenotype is associated with systemic inflammation in asthma // *Chest*. 2012. Vol.142, №1. P.86–93. doi: 10.1378/chest.11-1838
23. Маянский А.Н. НАДФ-оксидаза нейтрофилов: активация и регуляция // *Цитокины и воспаление*. 2007. Т.6, №3. С.3–13.
24. Серебренникова С.Н., Семинский И.Ж. Роль цитокинов в воспалительном процессе (сообщение 1) // *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2008. №6. С.5–8.
25. Васильева Г.И., Иванова И.А., Тюкавкина С.Ю. Кооперативное взаимодействие моно- и полинуклеарных фагоцитов, опосредованное моно- и нейтрофилокинами // *Иммунология*. 2000. Т.21, №5. С.11–17.
26. Pantano C., Ather J.L., Alcorn J.F., Poynter M.E., Brown A.L., Guala A.S., Beuschel S.L., Allen G.B., Whittaker L.A., Bevelander M., Irvin C.G., Janssen-Heininger Y.M. Nuclear factor-kappaB activation in airway epithelium induces inflammation and hyperresponsiveness // *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 2008. Vol.177, №9. P.959–969. doi: 10.1164/rccm.200707-1096oc

REFERENCES

1. Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Perelman J.M., Zinov'ev S.V. Influence of neutrophilic component of bronchial inflammation on the level of disease control and lung function in patients with asthma. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ= Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2016; (61):16–24 (in Russian). doi: 10.12737/21434
2. Pirogov A.B., Gassan D.A., Zinov'ev S.S., Prikhodko A.G., Kolosov V.P., Perelman J.M. Destruction of the bronchial epithelium in patients with severe asthma according to different patterns of inflammation and cold airway hyperresponsiveness. *Terapevticheskiy arkhiv=Therapeutic archive* 2019; 91(3):31–35 (in Russian). doi: 10.26442/00403660.2019.03.000091
3. Ogorodova L.M., Selivanova P.A., Gereng E.A., Bogomyakov V.S., Volkova L.I., Pleshko R.I. Pathomorphological characteristics of unstable bronchial asthma (brittle phenotype). *Terapevticheskiy arkhiv=Therapeutic archive* 2008; (3):39–43 (in Russian).
4. Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Perelman J.M., Zinov'ev S.V. Dynamics of inflammatory-cellular profile of the induced sputum in patients with bronchial asthma and cold airway hyperresponsiveness under basic anti-inflammatory therapy. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ= Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2016; (60):16–22 (in Russian). doi: 10.12737/19935
5. Mayansky A.N. NADPH-oxidase of neutrophils: activation and regulation. *Tsitokiny i vospalenie* 2007;6(3):3–13 (in Russian).
6. Kulikov E.S., Ogorodova L.M., Freidin M.B., Deev I.A., Selivanova P.A., Fedosenko S.V., Kirillova N.A. Molecular mechanisms of severe asthma. *Molekulyarnaya meditsina* 2013; (2):24–32 (in Russian).
7. Wei L., Sandbulte M.R., Thomas P.G., Webby R.J., Homayouni R., Pfeffer L.M. NFkappa B negatively regulates interferon-induced gene expression and anti-influenza activity. *J. Biol. Chem*. 2006; 281(17):11678–11684. doi: 10.1074/jbc.m513286200
8. Sheller J.R., Polosukhin V.V., Mitchell D., Cheng D-S., Stokes Peebles R., Blackwell T.S. NF-kB induction in airway epithelium increases lung inflammation in allergen challenged mice. *Exp. Lung Res*. 2009; 35(10):883–895. doi: 10.3109/01902140903019710
9. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (2020 update). Available at: www.ginasthma.org.
10. Bakakos P., Schleich F., Alchanatis M., Louis R. Induced sputum in asthma: From bench to bedside. *Curr. Med. Chem*. 2011; 18(10):1415–1422. doi: 10.2174/092986711795328337
11. Perelman J.M., Prikhodko A.G. Combined diagnostics technique of assessing conditioning function and cold hyperreactivity of respiratory tract. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ= Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2002; (12):22–28 (in Russian).
12. Karpishhenko A.I. editor. Medical laboratory technologies: a guide on clinical laboratory diagnostics. Moscow: GEOTAR-Media; 2012 (in Russian)
13. Ul'yanychev N.V. Systematic research in medicine. Saarbrücken: LAP LAMBERT; 2014 (in Russian).
14. Krasnova Y.N. Effect of tobacco smoking on the respiratory system. *Siberian Medical Journal (Irkutsk)* 2015; (6):11–16 (in Russian).
15. Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Kolosov V.P., Perelman J.M. The influence of smoking on the formation of airway hyperresponsiveness to cold and the course of destructive-cytological processes in the goblet cells of the bronchial epithelium in patients with asthma. *Bulletin of Siberian Medicine* 2019; 18(3):90–100 (in Russian). doi: 10.20538/1682-0363-2019-3-90-100

16. Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Perelman J.M., Zinoviev S.V., Zhou X., Li Q. The change of goblet cells in response to cold bronchial challenge in patients with bronchial asthma with cold airway hyperresponsiveness. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniya*=*Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2018; (68):8–16 (in Russian). doi: 10.12737/article_5b188b4bad3200.10559927

17. Pirogov A.B., Zinov'ev S.V. Perelman J.M., Semirech Y.O., Semenova G.V., Kolosov A.V. Myeloperoxidase activity of neutrophils and eosinophils in induced sputum of patients with bronchial asthma with cold bronchial hyperresponsiveness. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniya*=*Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2014; (53):50–56 (in Russian).

18. Kuwano K. Epithelial cell apoptosis and lung remodeling. *Cell. Mol. Immunol.* 2007; 4(6):419–429.

19. Konishcheva A.Y., Gervazieva V.B., Lavrentyeva E.E. Changes in structure and function of respiratory epithelium in bronchial asthma. *Pulmonologiya* 2012; (5):85–91 (in Russian). doi: 10.18093/0869-0189-2012-0-5-85-91

20. Hashimoto S., Matsumoto K., Gon Y., Takahashi N. Update on airway inflammation and remodeling in asthma. *Allergy Clin. Immunol. Int.* 2007; 19(5):178–174. doi: 10.1027/0838-1925.19.5.178

21. Puthothu B., Krueger M., Heinze J., Forster J., Heinzmann A. Impact of IL8 and IL8-receptor alpha polymorphisms on the genetics of bronchial asthma and severe RSV infections. *Clin. Mol. Allergy* 2006; 4:2. doi: 10.1186/1476-7961-4-2

22. Wood L.G., Baines K.I., Fu J. Scott H.A., Gibson P.G. The neutrophilic inflammatory phenotype is associated with systemic inflammation in asthma. *Chest* 2012; 142(1):86–93. doi: 10.1378/chest.11-1838

23. Mayansky A.N. NADPH-oxidase of neutrophils: activation and regulation. *Tsitokiny i vospalenie* 2007; 6(3):3–13 (in Russian).

24. Serebrennikova S., Seminsky I. The role of cytokines in the inflammatory process (part 1). *Siberian Medical Journal (Irkutsk)* 2008; (6):5–8 (in Russian).

25. Vasil'eva G.I., Ivanova I.A., Tyukavkina S.Yu. Cooperative interaction of mono- and polynuclear phagocytes mediated by mono- and neutrophilokines. *Immunologiya* 2000; 21(5):11–17 (in Russian).

26. Pantano C., Ather J.L., Alcorn J.F., Poynter M.E., Brown A.L., Guala A.S., Beuschel S.L., Allen G.B., Whittaker L.A., Bevelander M., Irvin C.G., Janssen-Heininger Y.M. Nuclear factor-kappaB activation in airway epithelium induces inflammation and hyperresponsiveness. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2008; 177(9):959–969. doi: 10.1164/rccm.200707-1096oc

Информация об авторах:

Анна Григорьевна Приходько, д-р мед. наук, главный научный сотрудник, лаборатория функциональных методов исследования дыхательной системы, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: prih-anya@ya.ru

Алексей Борисович Пирогов, канд. мед. наук, доцент, старший научный сотрудник, лаборатория профилактики неспецифических заболеваний легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: dncfpd@dncfpd.ru

Юлий Михайлович Перельман, член-корреспондент РАН, д-р мед. наук, профессор, зам. директора по научной работе, зав. лабораторией функциональных методов исследования дыхательной системы, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: jperelman@mail.ru

Author information:

Anna G. Prikhodko, MD, PhD, D.Sc. (Med.), Main Staff Scientist, Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: prih-anya@ya.ru

Aleksey B. Pirogov, MD, PhD (Med.), Associate Professor, Senior Staff Scientist, Laboratory of Prophylaxis of Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: dncfpd@dncfpd.ru

Juliy M. Perelman, MD, PhD, D.Sc. (Med.), Corresponding member of RAS, Professor, Deputy Director on Scientific Work, Head of Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: jperelman@mail.ru

Поступила 15.09.2020
Принята к печати 30.09.2020

Received September 15, 2020
Accepted September 30, 2020

УДК 577.152.313/315:616.155.34]616.248:616-001.19

DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-56-65

ГИДРОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ХОЛОДОВОГО СТИМУЛА

А.Б.Пирогов, И.А.Андриевская, А.Г.Приходько, Ю.М.Перельман

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

РЕЗЮМЕ. Введение. Лабиллизация лизосомных мембран с высвобождением широкого спектра лизосомных ферментов провоспалительного и проапоптотического действия, обладающих высоким гидролитическим потенциалом, выступает одним из существенных компонентов адаптивных изменений клеток при стрессе. Участие гидролитических ферментов фагоцитов в клеточных реакциях воспаления и адаптации к холодному стрессу у больных бронхиальной астмой (БА) мало исследовано. **Цель.** Изучить активность гидролаз нейтрофилов бронхов больных БА при холод-индуцированном стрессе. **Материалы и методы.** У больных персистирующей БА (n=13) методом спирометрии определяли функцию внешнего дыхания (ОФВ₁,%), реакцию дыхательных путей (ΔОФВ₁_{ИГХВ}, %) на стандартную 3-минутную изокапническую гипервентиляцию холодным воздухом (ИГХВ). Проводили сбор индуцированной и спонтанно продуцируемой мокроты после пробы ИГХВ. В нейтрофилах мокроты цитохимическими методами выявляли активность кислой (КФ) и щелочной (ЩФ) фосфатаз, аденозинтрифосфатазы (АТФазы). Оценку реакции на активность гидролаз проводили полуколичественным методом Капlou с распределением клеток по группам в зависимости от интенсивности окраски продукта, образующегося при взаимодействии фермента с субстратом, и последующим расчетом среднего цитохимического индекса (СЦИ) ферментативной активности. **Результаты.** Исходное значение ОФВ₁ составило в среднем 97,9±5,3%, ΔОФВ₁_{ИГХВ} -2,0 (-8,0; 2,0)%. Под воздействием холодного стимула на фоне смешанного паттерна воспаления бронхов у пациентов регистрировались: повышение СЦИ КФ нейтрофилов (с 1,11±0,06 до 1,42±0,06; p<0,01), увеличение количества клеток со средней степенью активности КФ (с 23,4±1,94 до 40,1±4,30%; p<0,01) и уменьшение числа клеток с отрицательной реакцией на КФ (с 15,1±3,58 до 5,2±2,78%; p<0,05), тенденция к увеличению числа нейтрофилов с высокой степенью активности АТФазы (с 3,50±2,70 до 7,22±2,64%) и ЩФ (с 13,7±4,22 до 15,7±3,46%). **Заключение.** Активация КФ нейтрофилов при холод-индуцированном стрессе свидетельствует о возможности увеличения кислотности среды интерстиция, стимуляции повреждения и уязвимости к холодному воздействию десмо-эпителиального барьера бронхов и расценивается в качестве критерия высокого риска развития холодной гиперреактивности дыхательных путей у больных БА со смешанным фенотипом воспаления.

Ключевые слова: бронхиальная астма, кислая и щелочная фосфатаза, аденозинтрифосфатаза, нейтрофилы в смешанном паттерне воспаления бронхов, холодное воздействие, холод-индуцированный стресс.

HYDROLYTIC ENZYMES OF AIRWAY NEUTROPHILIC GRANULOCYTES IN PATIENTS WITH ASTHMA UNDER COLD STIMULI EXPOSURE

A.B.Pirogov, I.A.Andrievskaya, A.G.Prikhodko, J.M.Perelman

Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

SUMMARY. Introduction. The labilization of lysosomal membranes with the release of a wide range of lysosomal enzymes of pro-inflammatory and proapoptotic action, which have a high hydrolytic potential, is one of the essential com-

Контактная информация

Алексей Борисович Пирогов, канд. мед. наук, доцент, старший научный сотрудник, лаборатория профилактики неспецифических заболеваний легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22. E-mail: dncfpr@dncfpr.ru

Correspondence should be addressed to

Aleksey B. Pirogov, MD, PhD (Med.), Associate Professor, Senior Staff Scientist, Laboratory of Prophylaxis of Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation. E-mail: dncfpr@dncfpr.ru

Для цитирования:

Пирогов А.Б., Андриевская И.А., Приходько А.Г., Перельман Ю.М. Гидролитические ферменты нейтрофильных гранулоцитов дыхательных путей у больных бронхиальной астмой при воздействии холодного стимула. 2020. Вып.78. С. 56–65. DOI: 10.36604/1998-5029-2020-78-56-65

For citation:

Pirogov A.B., Andrievskaya I.A., Prikhodko A.G., Perelman J.M Hydrolytic enzymes of airway neutrophilic granulocytes in patients with asthma under cold stimuli exposure. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2020; (78):56–65 (in Russian). DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-56-65

ponents of adaptive changes in cells under stress. The participation of hydrolytic enzymes of phagocytes in cellular reactions of inflammation and adaptation to cold stress in patients with asthma has been little studied. **Aim.** To study the activity of neutrophil hydrolases of bronchi in patients with asthma under cold-induced stress. Materials and methods. In patients with persistent asthma ($n=13$), lung function ($FEV_1, \%$), airway response ($\Delta FEV_{1\text{IHCA}}, \%$) to standard 3-minute isocapnic hyperventilation with cold air (IHCA) were determined by spirometry. The collection of induced and spontaneously produced sputum after the IHCA was carried out. The activity of acidic (AP) and alkaline (ALP) phosphatases, adenosine triphosphatase (ATPase) was detected in sputum neutrophils by cytochemical methods. The assessment of the reaction to the activity of hydrolases was carried out by the semi-quantitative Kaplow method with the distribution of cells into groups depending on the color intensity of the product formed during the interaction of the enzyme with the substrate, and the subsequent calculation of the average cytochemical index (ACI) of the enzymatic activity. **Results.** The baseline FEV_1 , averaged $97.9 \pm 5.3\%$, $\Delta FEV_{1\text{IHCA}} -2.0$ ($-8.0; 2.0\%$). Under the influence of a cold stimulus against the background of a mixed pattern of bronchial inflammation in patients, the following was recorded: an increase in the ACI AP of neutrophils (from 1.11 ± 0.06 to 1.42 ± 0.06 ; $p < 0.01$), an increase in the number of cells with an average degree of AP activity (from 23.4 ± 1.94 to $40.1 \pm 4.30\%$; $p < 0.01$) and a decrease in the number of cells with a negative reaction to AP (from 15.1 ± 3.58 to $5.2 \pm 2.78\%$; $p < 0.05$), a tendency to an increase in the number of neutrophils with a high degree of ATPase activity (from 3.50 ± 2.70 to $7.22 \pm 2.64\%$) and ALP (from 13.7 ± 4.22 to $15.7 \pm 3.46\%$). **Conclusion.** The activation of AP of neutrophils under cold-induced stress indicates the possibility of an increase in the acidity of the interstitium, stimulation of damage and vulnerability to cold effects of the desmo-epithelial barrier of the bronchi and is regarded as a criterion for a high risk of cold airway hyperresponsiveness in asthma patients with a mixed inflammation phenotype.

Key words: asthma, acid and alkaline phosphatase, adenosine triphosphatase, neutrophils in a mixed pattern of bronchial inflammation, cold exposure, cold-induced stress.

Воздействие низких температур атмосферного воздуха как экологически обусловленного триггера холодиндуцированного бронхоспазма у больных бронхиальной астмой (БА) связано с развитием клинического синдрома холодовой гиперреактивности дыхательных путей (ХГДП), диагностируемого у большинства (60-80%) пациентов при астме любой степени тяжести [1]. Наряду с другими повреждающими факторами, холодовой стимул является индуктором респираторного оксидативного стресса, инициирующего развитие и прогрессирование различных заболеваний лёгких [2].

Известно, что в качестве одного из существенных компонентов адаптивных изменений клеток при стрессе выступает реакция лизосом, которая проявляется лабилизацией лизосомных мембран и высвобождением широкого спектра лизосомных ферментов провоспалительного и проапоптотического действия, обладающих высоким гидролитическим потенциалом [3, 4]. Другой гранью обусловленного стрессом функционирования лизосом, связанного с экспортом ферментов в результате дестабилизации мембран, является секреция гидролаз в окружающую среду клетками лейкоцитарного ряда, тканевыми макрофагами и иммунными [3]. Так, провоспалительная роль полиморфноядерных лейкоцитов рассматривается в связи с мобилизацией и экзоцитозом внутриклеточных гранул: первичных (азурофильных), маркером которых служат пероксидаза и кислая фосфатаза, и вторичных (специфических), относящихся к источникам щелочной фосфатазы [5].

Как было установлено исследованиями *in vitro*, в условиях длительного холодового воздействия на организм происходит увеличение продуктов гистохимической реакции на щелочную фосфатазу в гранулах

тучных клеток, мигрирующих в просвет трахеи для передачи информационных сигналов стволовым клеткам с целью уменьшения количества малодифференцированных клеточных элементов в трахеальном эпителии [6]. При этом в клетках цилиарного эпителия обнаруживается значительное усиление активности гидролаз: кислой фосфатазы в апикальном, щелочной фосфатазы – в базальном полюсах эпителиоцитов [6]. Высказано предположение о провоцирующем влиянии пролонгированного действия низких температур на развитие глубоких и стойких нарушений гидролитической ферментативной активности в реснитчатом эпителии дыхательных путей вследствие дестабилизации мембран лизосом, что приводит к деструктивным изменениям эпителиальной паренхимы [6].

На основании экспериментальных данных об изменении активности гидролаз эпителия воздухоносных путей в условиях общего охлаждения организма, закономерно возникает вопрос о возможных преобразованиях уровня гидролитической активности и лизосомного экзоцитоза эффекторов воспаления дыхательных путей под влиянием холода. Речь идет о нейтрофильных гранулоцитах, в качестве представителей популяции профессиональных фагоцитов, индуцирующих посредством респираторного взрыва генерацию активных форм кислорода (АФК) и других медиаторов клеточного окисления, вызывающих экспрессию провоспалительных цитокинов и свободнорадикальное повреждение респираторного тракта [2, 7]. В аспекте морфогенеза холодовой гиперреактивности и воспаления бронхов у больных БА актуальна фундаментальная проблема влияния оксидантов, продуцируемых при холодиндуцированном стрессе, на функциональную, в том числе лизосомную, активность нейтрофилов, формирующих в совокупности с эозинофилами специ-

фический для развития данного вида гиперреактивности воспалительный профиль дыхательных путей.

Цель настоящей работы заключалась в изучении активности гидролитических ферментов (кислой и щелочной фосфатаз, аденозинтрифосфатазы) нейтрофильных гранулоцитов бронхов у больных персистирующей БА при воздействии холодого стимула.

Материалы и методы исследования

Исследование выполнено в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» (2000 г.), Правилами клинической практики в Российской Федерации, утверждёнными Приказом Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003, после экспертной оценки и разрешения комитета по биоэтической этике Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания (протокол №121 от 25.10.17). Обследование больных проводилось на добровольной основе, после знакомства с дизайном работы и подписания информированного согласия. Набор пациентов осуществлялся в зимний период года.

Исследование носило одномоментный наблюдательный характер. Основными критериями включения больных в исследование были: возраст от 20 до 60 лет; документально подтверждённый клинический диагноз персистирующей БА; объем форсированного выдоха за первую секунду ($ОФВ_1$) на момент тестирования более 70% должной величины; добровольное информированное согласие пациента на участие в исследовании. Критерии исключения: наличие сопутствующей патологии, которая могла повлиять на результаты исследования; наличие острых респираторных заболеваний и обострения БА в течение предшествующих 4 недель.

В исследовании приняли участие 13 больных персистирующей БА неаллергического фенотипа [8], обоих полов (7 женщин, 6 мужчин), средний возраст $47,4 \pm 4,3$ лет. Обследование больных проводилось первую половину дня, по единым стандартам в соответствии с существующими международными протоколами. В день тестирования пациентами до проведения процедур в течение 1,5 часов ограничивался приём горячей пищи и напитков, продуктов, способных повлиять на собираемый биоматериал, запрещалась любая физическая нагрузка, контакт с холодом, аэрополлютантами, изменение местонахождения. Перед тестированием больных просили воздерживаться от приёма бронхолитических препаратов, комбинированных ингаляционных противовоспалительных средств, как минимум за 6-24 часов до предполагаемого тестирования [9, 10].

Дизайн работы предусматривал двухдневное обследование больных с оценкой функции внешнего дыхания, бронхиальной реактивности, особенностей бронхиального воспаления. Первый день исследования

включал последовательно базовую оценку вентиляционной функции лёгких с анализом кривой поток-объем форсированного выдоха ($ОФВ_1$, $ОФВ_1/ЖЕЛ$) при рутинной спирометрии (Easy on PC, ndd Medizintechnik AG, Швейцария), выполнение пробы с β_2 -агонистом короткого действия (сальбутамол, 400 мкг) с целью определения обратимого компонента бронхиальной обструкции (Δ , %); сбор индуцированной мокроты (ИМ) по стандартной методике [11] после ингаляций 3-, 4- и 5%-го раствора хлорида натрия с применением ультразвукового небулайзера (OMRON NE-U-17, Япония) сеансами по 7 минут, под контролем $ОФВ_1$ после каждой провокации. На следующий день проводилась 3-минутная бронхопровокационная проба путём изокапнической гипервентиляции холодным воздухом (-20°C) (ИГХВ) под контролем спирометрии [1], после которой осуществлялся сбор образцов спонтанно продуцируемой мокроты.

Цитологическое исследование мокроты проводили в тот же день не позднее 2 часов после ее получения. В камере Горяева оценивали количество клеток в единице нативного материала мокроты стандартным методом. Для уточнения клеточного состава 50 мкл мокроты наносили на нагретые до температуры 37°C предметные стекла. Цитологические мазки изготавливались стандартным методом Кост и высушивались на воздухе в течение 5-10 минут при температуре 37°C в вентилируемом термостате ТМ-2. После фиксации (10 мин) в парах 40% раствора формалина мазки окрашивались 4-5% водным красителем Романовского-Гимза при pH 6,8. Клеточный состав в мазках мокроты изучали при помощи светооптической иммерсионной микроскопии, с подсчетом не менее 400 клеток в 100 полях зрения, в центральных и периферических частях препарата. Число найденных клеток выражали в процентах [11].

Для светооптического изучения в мазках мокроты реакции нейтрофильных гранулоцитов на гидролазы (кислую и щелочную фосфатазы, аденозинтрифосфатазу) окрашивание стёкол выполняли на термостоліке (37°C). Необходимый краситель наносили непосредственно на фиксированные (5 мин) в парах формалина мазки в объёме, покрывающем весь мазок, затем оставляли на 30-35 минут, после чего дважды промывали дистиллированной водой. При подготовке мазков для исследования кислой фосфатазы мазки дополнительно (2-5 сек) обрабатывали 0,5% сульфидом натрия, затем дважды промывали дистиллированной водой. Для выявления реакции клеток на кислую фосфатазу (КФ) применяли сульфидный метод Гомори (pH инкубационного раствора 5,0), для выявления реакции клеток на щелочную фосфатазу (ЩФ) использовали метод Берстона (pH инкубационного раствора 8,5). В обоих случаях ядра клеток докрасивали 0,1% водным раствором сафранина. Для выявления реакции нейтрофильных гранулоцитов на аденозинтрифосфатазу (АТФаза) использовали метод Вахштейна-Мейзеля (pH

инкубационного раствора 7,2) с докрашиванием ядер клеток толуидиновым синим [12, 13].

Оценку реакции на активность КФ, ЩФ, АТФазы в нейтрофильных гранулоцитах мокроты проводили полуколичественным методом Каплю с распределением клеток по группам в зависимости от интенсивности маркирующей активности фермента окраски продукта, образующегося в цитоплазме при взаимодействии фермента с субстратом. В 0 группу включали клетки без гранул, в I группу – клетки с низкой степенью активности фермента, содержащие единичные гранулы (площадь специфической окраски и заполнение цитоплазмы гранулами до 25% цитоплазмы), во II группу – клетки со средней степенью активности фермента (площадь окраски и заполнение цитоплазмы гранулами 30-70%), в III группу – клетки с высокой степенью активности фермента (площадь окраски и заполнение цитоплазмы гранулами 70-100%) с экзоцитозом гранул и гранулярного содержимого. Путем световой микроскопии в мазке подсчитывали 100 нейтрофилов, дифференцируя клетки по уровню окраски. Средний цитохимический индекс (СЦИ, в условных единицах) рассчитывали по формуле: $СЦИ = (0 \times N_0 + 1 \times N_1 + 2 \times N_2 + 3 \times N_3) / 100$, где N_0, N_1, N_2, N_3 – число нейтрофилов соответствующей группы.

Статистический анализ полученного материала проводили на основе стандартных методов вариационной статистики с использованием программы «Автоматизированная система диспансеризации» [14]. Оценку соответствия признака закону нормального распределения проводили при помощи критериев Колмогорова-Смирнова, Пирсона-Мизеса. При нормальном типе распределения использовали парный критерий t (Стьюдента), при распределении данных, отличном от нормального, применяли парный критерий

Уилкоксона. Описательная статистика количественных признаков представлена с помощью средней арифметической, стандартной ошибки средней арифметической ($M \pm m$), а также медианы и квартилей (Me ($Q_1; Q_3$)). Для всех величин принимались во внимание уровень статистической достоверности различий (p) менее 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

На момент тестирования все больные имели стабильное течение болезни по данным вопросника Asthma Control Test (ACT > 19 баллов). Полученные при спирометрическом исследовании исходные значения параметров вентиляционной функции легких составили в среднем по группе для $ОФВ_1$ $97,9 \pm 5,3\%$, $ОФВ_1/ЖЕЛ$ $73,3 \pm 2,6\%$. Прирост $ОФВ_1$ (%) в ответ на введение короткодействующего β_2 -агониста варьировал в пределах 6,5 (3,09; 16,0), что допускало проведение сбора ИМ и выполнение бронхопровокационной пробы ИГХВ. Все больные адекватно перенесли индукцию солевыми растворами, острую холодную бронхопровокацию и находились не менее 1 часа под контролем медицинского персонала после выполненного тестирования. Изменение $ОФВ_1$ ($\Delta, \%$) после пробы ИГХВ составило $-2,0$ ($-8,0; 2,0$)%.

В цитограммах мокроты больных после ИГХВ отмечались существенные сдвиги. Так, в ответ на ингаляцию холодного воздуха наблюдалось увеличение цитоза, значимо возрастало количество эозинофилов и лимфоцитов (табл. 1). Содержание эпителиоцитов в мокроте достоверно уменьшалось (табл. 1), что указывало на развитие индикатора ремоделирования бронхов – эпителиальной деструкции, стимулированной холодуиндуцированным стрессом.

Таблица 1

Динамика цитоза и клеточного состава мокроты в ответ на холодную бронхопровокацию ($M \pm m$)

Показатели	Исходные	После пробы ИГХВ	p
Цитоз (количество клеток/1 мкл)	$1,5 \pm 0,17$	$2,2 \pm 0,22$	$<0,05$
Нейтрофилы, %	$47,6 \pm 2,92$	$42,3 \pm 3,83$	$>0,05$
Макрофаги, %	$36,8 \pm 2,78$	$43,8 \pm 2,71$	$>0,05$
Эозинофилы, %	$1,88 \pm 0,33$	$7,8 \pm 2,70$	$<0,05$
Лимфоциты, %	$2,8 \pm 0,24$	$1,2 \pm 0,21$	$<0,001$
Эпителиоциты, %	$11,6 \pm 1,67$	$4,6 \pm 2,10$	$<0,05$

Вариант деструкции бронхиального эпителия – источника уменьшения числа структурно целостных клеток, найденных в ИМ, может быть охарактеризован как достаточно активный ввиду выявленных особенностей воспалительного паттерна дыхательных путей исследуемых больных. Поскольку в мокроте больных было обнаружено $\geq 2\%$ эозинофилов и $\geq 40\%$ нейтрофилов, паттерн воспаления был отнесен к смешанному [15], характеризующемуся выраженной пероксидазной активностью лизосом, высокими показателями деструк-

ции и цитолита пула нейтрофилов [16].

Смешанный паттерн воспаления ассоциируется с высокой степенью эпителиальной деструкции, оказывающей негативное влияние на проходимость дыхательных путей и клинические проявления астмы, и расценивается в качестве неблагоприятного прогностического фактора течения болезни [17]. Больные со смешанным фенотипом БА, несмотря на получаемую базисную терапию ингаляционными глюкокортикостероидами, чаще, чем лица, имеющие эозинофильный

паттерн воспаления бронхов, испытывают дыхательный дискомфорт и потребность в использовании препаратов неотложной помощи, что находит отражение в более низких значениях ОФВ₁ и МОС₂₅₋₇₅, более значимом приросте ОФВ₁ в ответ на пробу с β₂-агонистом и усиленной бронхоконстрикторной реакции на ингаляцию холодного воздуха [18]. Нейтрофилия бронхиального инфильтрата, как правило, сопутствует развитию ХГДП. Частота встречаемости лиц с ХГДП среди больных со смешанным воспалительным паттерном достоверно выше, чем среди пациентов, характеризующихся эозинофилией бронхиального воспаления (51,4 и 28,6%, χ²=6,15; p<0,05, соответственно). В соответствии с данными Asthma Control Test, смешанный паттерн воспаления у больных легкой БА сочетается с низким уровнем контроля и более частыми обострениями болезни [18].

Следует заметить, что экспортируемая нейтрофилами генерация АФК рассматривается в качестве причины свободнорадикального повреждения крист митохондрий и разрушения эндоплазматического ретикулума бронхиального эпителия с последующей гибелью клеток [19]. Предполагается, что в этом случае сигналы апоптоза передаются в эпителий не по прямому пути, от лигирования рецептора смерти до активации каспазного каскада и гибели клеток, а по пути, опосредованному дезэнергизацией эпителиоцитов [19]. Дисфункция эпителия, активно развивающаяся при БА, связывается с низким уровнем экспрессии факторов антиоксидантной защиты, в частности, супер-

оксиддисмутазы, способствующим увеличению восприимчивости эпителиальных клеток к агрессивному действию оксидантов [20].

Так как в мокроте исследуемых больных были отмечены признаки существенной деструкции эпителия, то изменения активности гидролаз нейтрофильных гранулоцитов могли бы служить свидетельством причастности гидролитических ферментов, секретируемых в интерстиций бронхов нейтрофилами, к дезорганизации и разрушению бронхиальной паренхимы путём потенцирования процессов трансфорилирования и дезэнергизации паренхиматозных клеток-мишеней. Действительно, в ответ на пробу ИГХВ у пациентов наблюдалось повышение СЦИ главного фермента лизосом нейтрофилов – КФ (табл. 2). В мокроте статистически значимо увеличивалось количество нейтрофилов со средней степенью активности фермента, у которых площадь окраски и заполнение цитоплазмы гранулами составляли 30-70% (НП, рис. 1), и уменьшалось количество клеток, у которых не обнаруживалось гранул с маркирующим активностью КФ продуктом (Н0) (табл. 2). Величины СЦИ лизосомной АТФазы и СЦИ ЩФ нейтрофилов после проведения ИГХВ достоверно не изменялись (табл. 2). Однако если принять во внимание тенденцию к увеличению содержания в мокроте дегранулирующих нейтрофилов с высокой активностью АТФазы и ЩФ (рис. 2, 3), вероятно участие данных ферментов в персистенции воспаления при холодном стрессе.

Таблица 2

Средний цитохимический индекс кислой и щелочной фосфатазы, аденозинтрифосфатазы и количество нейтрофильных гранулоцитов с разной степенью активности ферментов в мокроте больных БА (M±m)

Показатели	Исходные	После пробы ИГХВ	p
<i>Кислая фосфатаза</i>			
Н0, %	15,1±3,58	5,2±2,78	<0,05
Н1, %	53,6±4,13	45,2±7,1	>0,05
НП, %	23,4±1,94	40,1±4,3	<0,01
НПП, %	4,1±1,38	9,0±2,95	>0,05
СЦИ, у.е.	1,11±0,06	1,42±0,06	<0,01
<i>Щелочная фосфатаза</i>			
Н0, %	3,2±1,37	4,9±4,9	>0,05
Н1, %	39,4±4,8	46,3±3,85	>0,05
НП, %	43,7±4,57	38,3±4,24	>0,05
НПП, %	13,7±4,22	15,7±3,46	>0,05
СЦИ, у.е.	1,68±0,09	1,69±0,06	>0,05
<i>Аденозинтрифосфатаза</i>			
Н0, %	15,0±3,57	19,0±5,11	>0,05
Н1, %	50,9±5,23	42,2±4,34	>0,05
НП, %	32,2±3,78	32,1±2,18	>0,05
НПП, %	3,50±2,7	7,22±2,64	>0,05
СЦИ, у.е.	1,22±0,06	1,28±0,09	>0,05

Примечание: СЦИ (в условных единицах) – средний цитохимический индекс. Н0, Н1, НП, НПП – нейтрофильные гранулоциты соответствующей группы (в %).

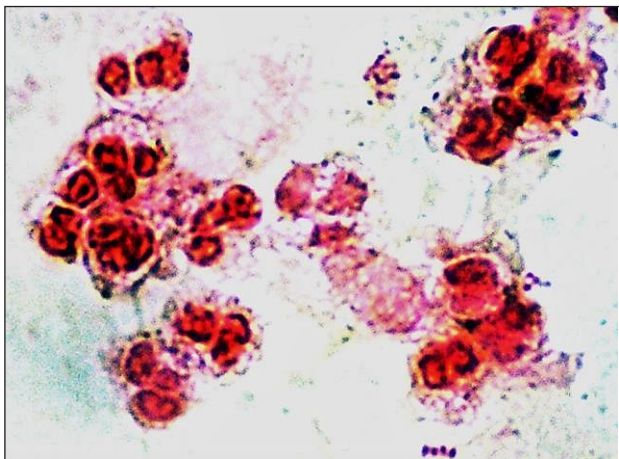


Рис. 1. Продукт реакции на кислую фосфатазу в цитоплазме нейтрофильных гранулоцитов маркирован гранулами чёрного цвета. В мазке мокроты больного БА после пробы ИГХВ видно преобладание клеток со средней степенью активности фермента. Реакция на кислую фосфатазу по Гомори, с докраской сафранином. Увеличение $\times 100$.

В соответствии с литературными сведениями о роли гидролитических ферментов в развитии неспецифических воспалительных заболеваний легких, кислые гидролазы лейкоцитов определяют деструктивный процесс в легких и характеризуют уровень лёгочной деструкции [5]. На фоне повышения активности КФ (при хроническом бронхите на 29,0 %, острой пневмонии – на 37,1%, БА смешанного генеза – на 32,6 %) к ключевым моментам реализации провоспалительной функции лейкоцитов относят мобилизацию и экзоцитоз во внеклеточное пространство цитоплазматических гранул, содержащих ферменты [5].

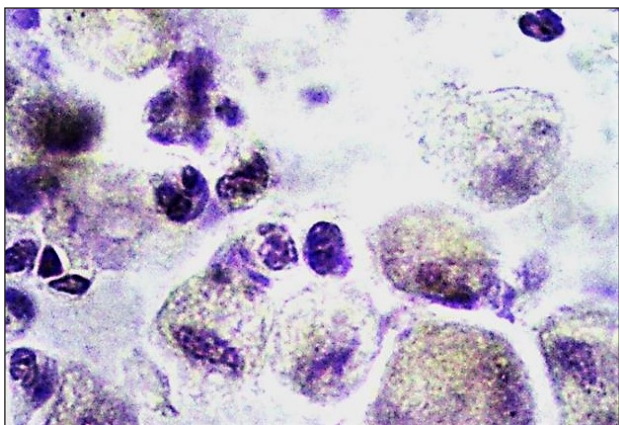


Рис. 2. Высокая активность аденозинтрифосфатазы нейтрофильных гранулоцитов в мазке мокроты больного БА после пробы ИГХВ. Продукт реакции на аденозинтрифосфатазу выявляется в виде гранул коричнево-черного цвета, локализованных в цитоплазме нейтрофилов, и вне клеток, снаружи от цитоплазматической мембраны как результат дегрануляции. Реакция на аденозинтрифосфатазу по методу Вах-

штейна-Мейзеля, с докраской ядер толуидиновым синим. Увеличение $\times 100$.

Исходя из концепции секреции гидролаз при эскалации повреждения и воспаления бронхолегочной ткани, прослеживаемая в дыхательных путях исследуемых больных в ответ на холодовое воздействие, тенденция к снижению количества нейтрофилов со слабopоложительной и положительной (низкой и средней степенью ферментативной активности) реакцией на гидролазы (Н1 для КФ, НП для ЩФ, Н1 для АТФазы, табл. 2) скорее всего связана с опустошением ферментативного запаса в гранулах на фоне усиленной дегрануляции и расходования гидролитических ферментов клетками. Уменьшение количества нейтрофилов может быть обусловлено также клеточной гибелью, наступающей в условиях холод-индуцированного стресса вследствие повреждения мембран лизосом, изолирующих гидролитические ферменты, имеющие оптимум действия в кислой среде.

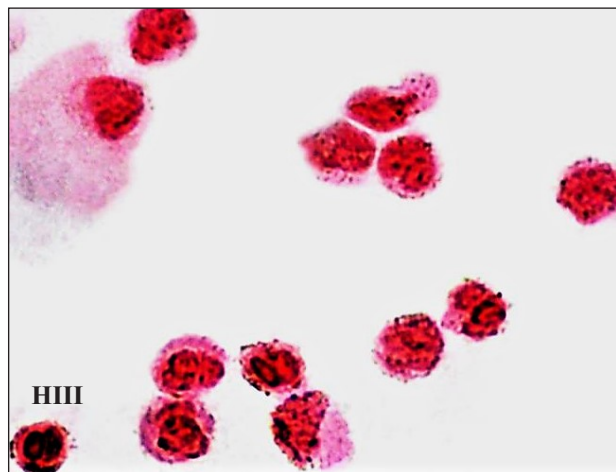


Рис. 3. Продукт реакции на щелочную фосфатазу в цитоплазме нейтрофильных гранулоцитов маркирован гранулами темно-синего цвета. Количество и интенсивность окраски цитоплазматических гранул нейтрофилов в мазке мокроты больного БА после пробы ИГХВ варьируют. Выявлены клетки с низкой и средней степенью активности фермента и нейтрофил с высокой активностью фермента (НП). Реакция на щелочную фосфатазу по Берстону, с докраской сафранином. Увеличение $\times 100$.

Из-за нарушения проницаемости и повреждения лизосомных мембран происходит «защелачивание» цитоплазмы нейтрофилов, высвобождаются кислые гидролазы, что вызывает запуск процессов апоптоза [4]. Лабильность мембран лизосом с последующей «утечкой» лизосомных гидролаз в цитозоль и индукцией апоптоза сопряжена со стрессорным воздействием окислителей и стимуляцией процессов перекисного окисления липидов в клетках [3, 18]. По мнению ряда авторов, ограниченное повреждение лизосом при слабо выраженном окислительном стрессе индуцирует апоптоз, между тем как выраженное повреждение ли-

зосом приводит к клеточному некрозу [21]. Частичный разрыв лизосомы трактуется в качестве раннего события апоптоза, в то время как в результате молниеносного разрыва органеллы возникает некроз [22]. Можно предположить, что снижение у исследуемых пациентов количества нейтрофилов, характеризующихся положительной реакцией на ЩФ (НП для ЩФ), связано со стимуляцией холодным стрессом трансмембранного переноса оксидантов с последующей утилизацией активированной ЩФ, индукцией перекисного окисления липидов и апоптоза.

Таким образом, отсутствие очевидной реакции бронхов больных БА на холодовой стимул не исключает изменения активности синтезируемых и секретируемых нейтрофилами гидролитических ферментов. Стимуляция активности гидролаз обусловлена холод-индуцированным стрессом, развивающимся в дыхательных путях независимо от манифестации ХГДП под воздействием холодного триггера, который, в свою очередь, является индуктором респираторного взрыва нейтрофилов с последующим свободно-радикальным повреждением, деструкцией и перестройкой бронхиального эпителия, приводящими к ремоделированию бронхов.

Обнаруженный у исследуемых пациентов смешанный паттерн воспаления дыхательных путей сопряжен с эпителиальной дисфункцией – следствием усиленной деструкции эпителия, а также генерации АФК, провоспалительных цитокинов и ферментов нейтрофилами, подвергающимися дегрануляции и деструкции. В отличие от дегрануляции, при которой в межклеточное пространство секретируются преимущественно сохранившие структуру гранулы с депонированными в них ферментами, при деструкции нейтрофилов происходит лабилизация мембран лизосом и во внешнюю среду проникает лизосомный матрикс. Так как смешанный фенотип ассоциирован с гиперреактивностью бронхов астматиков к холодовому стимулу, выявленная в нейтрофилах смешанного воспалительного паттерна бронхов больных БА активация кислых гидролаз (КФ нейтрофилов), инициирующих клеточное повреждение и поддерживающих воспаление за счет повышения кислотности среды интерстиция, может служить критерием воспалительной персистенции и высокого риска развития у таких пациентов ХГДП.

Ограничения настоящего исследования связаны с небольшим количеством больных в анализируемой выборке. Полученные результаты дают предварительное

представление о происходящих изменениях в нейтрофилах после воздействия холода у больных БА. Участие нейтрофильных гранулоцитов в утяжелении астмы носит дискуссионный характер, в том числе их роль при холодовом стрессе и формировании бронхоспазма под воздействием холода, механизмы которого до настоящего времени обсуждаются. Дополнительной сложностью в данной работе являлось получение удовлетворительных образцов биологического материала у больных БА с нетяжелым течением болезни вне обострения. Несомненно, инвазивный забор бронхоальвеолярной жидкости более точно отражал бы характер воспаления дыхательных путей и его особенности после ингаляции холодного воздуха.

Заключение

Воздействие холодового стимула на дыхательные пути больных персистирующей БА сопровождается изменением активности гидролитических ферментов нейтрофилов в смешанном паттерне воспаления. Повышение активности нейтрофильной кислой фосфатазы, индуцированное холодным стрессом и способствующее поддержанию бронхиального воспаления, свидетельствует о возможности увеличения кислотности интерстициальной среды, стимуляции повреждения клеток и уязвимости десмо-эпителиального барьера бронхов по отношению к действию холодового триггера. Активация кислой фосфатазы у больных персистирующей БА со смешанным воспалительным фенотипом может служить критерием высокого риска развития ХГДП.

Благодарность

Авторы выражают благодарность кандидату медицинских наук Пироговой Наталье Алексеевне за помощь в анализе цитологического материала

Acknowledgment

The authors are grateful to Natalia A. Pirogova for the help in the analysis of cytological material

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Источники финансирования

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

1. Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Колосов В.П. Гиперреактивность дыхательных путей. Владивосток: Дальнаука, 2011. 204 с. ISBN 978-5-8044-1220-4
2. Соодаева С.К. Свободнорадикальные механизмы повреждения при болезнях органов дыхания // Пульмонология. 2012. Т.22, №1. С.5–10. doi: 10.18093/0869-0189-2012-0-1-5-10
3. Пупышев А.Б. Лизосомы человека: библиометрическая оценка актуальных направлений исследований // Бюллетень СО РАМН. 2006. Т.26, №1. С.106–116.
4. Пупышев А.Б. Пермеаблизация лизосомных мембран как апоптогенный фактор // Цитология. 2011. Т.53,

№4. С.313–324.

5. Федотова Г.Г., Киселева Р.Е. Изменение активности щелочной и кислой фосфатазы лейкоцитов в развитии неспецифического воспаления в лёгких // Современные наукоёмкие технологии. 2007. №1. С.91–92. URL: <http://www.top-technologies.ru/ru/article/view?id=24106>

6. Целуйко С.С., Красавина Н.П. Гистохимическая локализация кислой и щелочной фосфатаз в эпителии трахеи при холодном воздействии // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2017. Вып.66. С.34–40. https://doi.org/10.12737/article_5a1f7327d79570.66878052

7. Соодаева С.К., Климанов И.А. Нарушения окислительного метаболизма при заболеваниях респираторного тракта и современные подходы к антиоксидантной терапии // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. 2009. №1. С.34–38.

8. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (Updated 2020). URL: <http://www.ginasthma.com>

9. Sylvester K.P., Clayton N., Cliff I., Hepple M., Kendrick A., Kirkby J., Miller M., Moore A., Rafferty G.F., O'Reilly L., Shakespeare J., Smith L., Watts T., Bucknall M., Butterfield K. ARTP statement on pulmonary function testing 2020 // BMJ Open Respir. Res. 2020. Vol.7, №1. e000575. doi: 10.1136/bmjresp-2020-000575

10. Pellegrino R., Viegi G., Brusasco V., Crapo R.O., Burgos F., Casaburi R., Coates A., Van der Grinten C.P.M., Gustafsson P., Hankinson J., Jensen R., Johnson D.C., MacIntyre N., McKay R., Miller M.R., Navajas D., Pedersen O.F., Wanger J. Interpretative strategies for lung function tests. Eur. Respir. J. 2005; 26(5):948–968. doi: 10.1183/09031936.05.00035205

11. Bakakos P., Schleich F., Alchanatis M., Louis R. Induced sputum in asthma: From bench to bedside // Curr. Med. Chem. 2011. Vol.18, №10. P.1415–1422. doi: 10.2174/092986711795328337

12. Волкова О.В., Елецкий Ю.К. Основы гистологии с гистологической техникой. Учебник. М.: Медицина, 1982. 304 с.

13. Лойда З., Госсрау Р., Шиблер Т. Гистохимия ферментов. Лабораторные методы: пер. с англ. М.: Мир, 1982. 272 с.

14. Ульянычев Н.В. Системность научных исследований в медицине. Saarbrücken: LAP LAMBERT, 2014. 140 с.

15. Hastie A.T., Moore W.C., Meyers D.A., Vestal P.L., Li H., Peters S.P., Bleecker E.R. Analyses of asthma severity phenotypes and inflammatory proteins in subjects stratified by sputum granulocytes // J. Allergy Clin. Immunol. 2010. Vol.125, №5. P.1028–1036. doi: 10.1016/j.jaci.2010.02.008

16. Пирогов А.Б., Колосов В.П., Перельман Ю.М., Приходько А.Г., Зиновьев С.В., Гассан Д.А., Мальцева Т.А. Особенности воспалительных паттернов бронхов и клинико-функциональная характеристика тяжёлой неконтролируемой астмы у больных с холодной гиперреактивностью дыхательных путей // Пульмонология. 2016. Т.26, №6. С.701–707. doi:10.18093/086901892016266701707

17. Пирогов А.Б., Гассан Д.А., Зиновьев С.В., Приходько А.Г., Колосов В.П., Перельман Ю.М. Деструкция эпителия бронхов у больных тяжёлой бронхиальной астмой при различных паттернах воспаления и холодной гиперреактивности дыхательных путей // Терапевтический архив. 2019. Т.91, №3. С.31–35. doi: 10.26442/00403660.2019.03.000091

18. Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Ульянычев Н.В. Профиль воспаления бронхов и особенности течения лёгкой бронхиальной астмы // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2018. Вып.70. С.8–14. doi: 10.12737/article_5c1261aedeb84.535698460

19. Kuwano K. Epithelial cell apoptosis and lung remodeling // Cell. Mol. Immunol. 2007. Vol.4. №6. P.419–429.

20. Конищева А.Ю., Гервазиева В.Б., Лаврентьева Е.Е. Особенности структуры и функции респираторного эпителия при бронхиальной астме // Пульмонология. 2012. Т.22, №5. С.85–91. doi: 10.18093/0869-0189-2012-0-5-85-91

21. Brunk U.T., Neuzil J., Eaton J.W. Lysosomal involvement in apoptosis // Redox Rep. 2001. Vol.6, №2. P.91–97. doi: 10.1179/135100001101536094

22. Terman A., Kurz T., Gustafsson B., Brunk U.T. Lysosomal labilization // IUBMB Life. 2006. Vol.58, №9. P.531–539. doi: 10.1080/15216540600904885

REFERENCES

1. Prikhodko A.G., Perelman J.M., Kolosov V.P. Airway hyperresponsiveness. Vladivostok: Dal'nauka; 2011 (in Russian). ISBN 978-5-8044-1220-4

2. Soodaeva S.K. Free radical mechanisms of injury in respiratory disease. *Pulmonologiya* 2012; 22(1):5–10 (in Russian). doi: 10.18093/0869-0189-2012-0-1-5-10

3. Pupyshev A.B. Human lysosomology: bibliometric estimation of frequency of publications in various research directions. *Bulletin of Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences (Siberian Scientific Medical Journal)* 2006;

26(1):106–116 (in Russian).

4. Pupyshev A.B. Lysosomal membrane permeabilization as apoptogenic factor. *Tsitologiya* 2011; 53(4):313–324 (in Russian).

5. Fedotova G.G., Kiseleva R.E. Changes in the activity of alkaline and acid phosphatase of leukocytes in the development of nonspecific inflammation in the lungs. *Sovremennye naukoemkie tekhnologii=Modern high technologies* 2007; (1):91–92 (in Russian). Available at: <http://www.top-technologies.ru/ru/article/view?id=24106>

6. Tseluyko S.S., Krasavina N.P. Histochemical localization of acid and alkaline phosphatase in trachea epithelium at cold exposure. *Bülleten' fiziologii i patologii dyhaniâ=Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2017; (66):34–40 (in Russian). https://doi.org/10.12737/article_5a1f7327d79570.6687805

7. Soodaeva S.K., Klimanov I.A. Disorders of oxidative metabolism in respiratory diseases and modern approaches to antioxidant therapy. *Atmosfera. Pul'monologiya i allergologiya* 2009; (1):34–38 (in Russian).

8. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (Updated 2020). Available at: <http://www.ginasthma.com>.

9. Sylvester K.P., Clayton N., Cliff I., Hepple M., Kendrick A., Kirkby J., Miller M., Moore A., Rafferty G.F., O'Reilly L., Shakespeare J., Smith L., Watts T., Bucknall M., Butterfield K. ARTP statement on pulmonary function testing 2020. *BMJ Open Respir. Res.* 2020; 7(1):e000575. doi: 10.1136/bmjresp-2020-000575

10. Pellegrino R., Viegi G., Brusasco V., Crapo R.O., Burgos F., Casaburi R., Coates A., Van der Grinten C.P.M., Gustafsson P., Hankinson J., Jensen R., Johnson D.C., MacIntyre N., McKay R., Miller M.R., Navajas D., Pedersen O.F., Wanger J. Interpretative strategies for lung function tests // *Eur. Respir. J.* 2005. Vol.26, №5. P.948–968. doi: 10.1183/09031936.05.00035205

11. Bakakos P., Schleich F., Alchanatis M., Louis R. Induced sputum in asthma: From bench to bedside. *Curr. Med. Chem.* 2011; 18(10):1415–1422. doi: 10.2174/092986711795328337

12. Volkova O.V., Eletskiy Yu.K. Basics of histology with histological technique (Textbook). Moscow: Meditsina; 1982 (in Russian)

13. Lojda Z., Gossrau R., Schiebler T.H. Enzyme histochemistry: a laboratory manual. Moscow: Mir; 1982 (in Russian).

14. Ul'yanychev N.V. Systematic research in medicine. Saarbrücken: LAP LAMBERT; 2014 (in Russian).

15. Hastie A.T., Moore W.C., Meyers D.A., Vestal P.L., Li H., Peters S.P., Bleecker E.R. Analyses of asthma severity phenotypes and inflammatory proteins in subjects stratified by sputum granulocytes. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2010; 125(5):1028–1036. doi: 10.1016/j.jaci.2010.02.008

16. Pirogov A.B., Kolosov V.P., Perel'man Y.M., Prikhod'ko A.G., Zinov'ev S.V., Gassan D.A., Mal'tseva T.A. Airway inflammation patterns and clinical and functional features in patients with severe uncontrolled asthma and cold-induced airway hyperresponsiveness. *Pulmonologiya* 2016; 26(6):701–707 (in Russian). doi: 10.18093/086901892016266701707

17. Pirogov A.B., Gassan D.A., Zinov'ev S.S., Prikhodko A.G., Kolosov V.P., Perelman J.M. Destruction of the bronchial epithelium in patients with severe asthma according to different patterns of inflammation and cold airway hyperresponsiveness. *Terapevticheskiy arkhiv=Therapeutic archive* 2019; 91(3):31–35 (in Russian). doi: 10.26442/00403660.2019.03.000091

18. Pirogov A.B., Perelman J.M., Prikhodko A.G., Ul'yanychev N.V. Profile of bronchial inflammation and clinical features of mild bronchial asthma. *Bülleten' fiziologii i patologii dyhaniâ=Bulletin Physiology and Pathology of Respiration.* 2018; (70):8–14 (in Russian). doi: 10.12737/article_5c1261aedeeb84.535698460

19. Kuwano K. Epithelial cell apoptosis and lung remodeling. *Cell. Mol. Immunol.* 2007; 4(6):419–429.

20. Konishcheva A.Y., Gervazieva V.B., Lavrentyeva E.E. Changes in structure and function of respiratory epithelium in bronchial asthma. *Pulmonologiya* 2012; (5):85–91 (in Russian). doi: 10.18093/0869-0189-2012-0-5-85-91

21. Brunk U.T., Neuzil J., Eaton J.W. Lysosomal involvement in apoptosis. *Redox Rep.* 2001; 6(2): 91–97. doi: 10.1179/135100001101536094

22. Terman A., Kurz T., Gustafsson B., Brunk U.T. Lysosomal labilization. *IUBMB Life* 2006; 58(9):531–539. doi: 10.1080/15216540600904885

Информация об авторах:

Алексей Борисович Пирогов, канд. мед. наук, доцент, старший научный сотрудник, лаборатория профилактики неспецифических заболеваний легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: dncfpd@dncfpd.ru

Author information:

Aleksey B. Pirogov, MD, PhD (Med.), Associate Professor, Senior Staff Scientist, Laboratory of Prophylaxis of Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: dncfpd@dncfpd.ru

Ирина Анатольевна Андриевская, д-р биол. наук, профессор РАН, зав. лабораторией механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru

Irina A. Andrievskaya, PhD, D.Sc. (Biol.), Professor of RAS, Head of Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru

Анна Григорьевна Приходько, д-р мед. наук, главный научный сотрудник, лаборатория функциональных методов исследования дыхательной системы, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: prih-anya@ya.ru

Anna G. Prikhodko, MD, PhD, D.Sc. (Med.), Main Staff Scientist, Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: prih-anya@ya.ru

Юлий Михайлович Перельман, член-корреспондент РАН, д-р мед. наук, профессор, зам. директора по научной работе, зав. лабораторией функциональных методов исследования дыхательной системы, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: jperelman@mail.ru

Juliy M. Perelman, MD, PhD, D.Sc. (Med.), Corresponding member of RAS, Professor, Deputy Director on Scientific Work, Head of Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: jperelman@mail.ru

*Поступила 17.11.2020
Принята к печати 30.11.2020*

*Received November 17, 2020
Accepted November 30, 2020*

УДК 616.248:616-071(612.225/.235+616-001.19)

DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-66-75

ТЕХНОЛОГИЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КЛИНИКО-АНАМНЕСТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ХОЛОДОВОЙ И ОСМОТИЧЕСКОЙ ГИПЕРРЕАКТИВНОСТИ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

Е.Ю.Афанасьева¹, А.Г.Приходько¹, В.П.Колосов¹, А.Н.Гребенюк², Ю.М.Перельман¹

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова», 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6-8

РЕЗЮМЕ. Введение. Трудоёмкость инструментальных тестов для выявления холодовой/осмотической гиперреактивности дыхательных путей ставит вопрос о поиске альтернативных вариантов выявления лиц, чувствительных к холоду и повышенной влажности. **Цель.** Разработка и валидация опросников для выявления холодовой и осмотической гиперреактивности дыхательных путей. **Материалы и методы.** Проведен опрос по специально разработанной анкете 191 больного легкой и средней персистирующей бронхиальной астмой (БА) с целью выявления клинических симптомов реагирования на низкую температуру и высокую влажность окружающей среды в повседневной жизни и после выполнения острых бронхопровокационных проб: 3-минутной изокапнической гипервентиляции холодным (-20°C) воздухом и ультразвуковой 3-минутной ингаляции дистиллированной воды. **Результаты.** Основными клиническими симптомами у лиц, чувствительных к холоду и/или высокой влажности окружающей среды, является возникновение под воздействием холодного или влажностного триггеров удушья и/или затруднённого дыхания, кашля, одышки, дистанционных хрипов. У лиц с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей высокая предсказательная ценность получена для симптома «удушье/затруднение дыхания» (чувствительность и специфичность 88,2 и 86,9%). У лиц с осмотической гиперреактивностью дыхательных путей высокая предсказательная ценность включала два симптома – «удушье/затруднённое дыхание», «появление дистанционных хрипов» (чувствительность и специфичность 88,4 и 85,3%). На основе полученных данных разработаны две скрининг-анкеты, содержащие ключи для быстрой постановки диагноза холодовой и осмотической гиперреактивности дыхательных путей. Анкеты апробированы на 840 респондентах Амурского газоперерабатывающего завода. **Заключение.** Представленная информация имеет важное значение для оценки здоровья населения, проживающего в суровых климатических условиях, контингента лиц, привлекаемых для работы в эти регионы. Предложенные скрининг-анкеты могут быть использованы для разработки программ профилактики людей, чья профессия связана с высоким риском респираторных инфекций при работе в холодных условиях, либо условиях высокой влажности.

Ключевые слова: бронхиальная астма, дистиллированная вода, осмотическая гиперреактивность дыхательных путей, холодовая гиперреактивность дыхательных путей, относительная влажность воздуха.

TECHNOLOGY FOR DETERMINING CLINICAL-ANAMNESTIC MARKERS OF COLD AND OSMOTIC AIRWAY HYPERRESPONSIVENESS

E.Yu.Afanas'eva¹, A.G.Prikhodko¹, V.P.Kolosov¹, A.N.Grebenyuk², J.M.Perelman¹

¹Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

Контактная информация

Евгения Юрьевна Афанасьева, младший научный сотрудник, лаборатория функциональных методов исследования дыхательной системы, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22; E-mail: evgeniyananev@yandex.ru

Correspondence should be addressed to

Evgeniya Yu. Afanas'eva, MD, Junior Staff Scientist, Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation. E-mail: evgeniyananev@yandex.ru

Для цитирования:

Афанасьева Е.Ю., Приходько А.Г., Колосов В.П., Гребенюк А.Н., Перельман Ю.М. Технология определения клинико-anamnestических маркеров холодовой и осмотической гиперреактивности дыхательных путей // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2020. Вып.78. С. 66–75. DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-66-75

For citation:

Afanaseva E.Yu., Prikhodko A.G., Kolosov V.P., Grebenyuk A.N., Perelman J.M. Technology for determining clinical-anamnesic markers of cold and osmotic airway hyperresponsiveness. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* = *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2020; (78):66–75 (in Russian). DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-66-75

²Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, 6/8 L'va Tolstogo Str., Saint Petersburg,
197022, Russian Federation

SUMMARY. Introduction. The high labor intensity of instrumental tests to detect cold/osmotic hyperresponsiveness of the airways raises the question of finding alternative options for identifying individuals sensitive to cold air and high ambient humidity. **Aim.** Development and validation of questionnaires for the detection of cold and osmotic airway hyperresponsiveness. **Materials and methods.** A survey was conducted according to a specially developed questionnaire of 191 patients with mild and moderate persistent asthma in order to identify clinical symptoms of response to low temperature and high humidity of the environment in everyday life and after performing acute bronchoprovocation tests: 3-minute isocapnic hyperventilation with cold (-20°C) air and 3-minute inhalation of ultrasonically nebulized distilled water. **Results.** The main clinical symptoms in individuals sensitive to cold and/or high environmental humidity are the occurrence of breathlessness and/or shortness of breath, coughing, labored breathing, distant wheezing under the influence of cold or moisture triggers. In individuals with cold airway hyperresponsiveness, a high predictive value was obtained for the “breathlessness/shortness of breath” symptom (sensitivity and specificity 88.2 and 86.9%). In individuals with osmotic airway hyperresponsiveness, a high predictive value included two symptoms – “breathlessness/shortness of breath”, “appearance of distant wheezing” (sensitivity and specificity 88.4 and 85.3%). On the basis of the data obtained, two screening questionnaires have been developed, containing keys for a quick diagnosis of cold and osmotic airway hyperresponsiveness. The questionnaires were tested on 840 respondents from the Amur Gas Processing Plant. **Conclusion.** The information provided is important for assessing the health of the population living in severe climatic conditions, the population of people involved in working in these regions. The proposed screening questionnaires can be used to develop prevention programs for people whose profession is associated with a high risk of respiratory infections when working in cold conditions or high humidity conditions.

Key words: asthma, distilled water, osmotic airway hyperresponsiveness, cold airway hyperresponsiveness, relative humidity.

Наряду с ключевыми причинами риска развития болезни органов дыхания, такими как курение, аэрополлютанты внешней среды, важным предрасполагающим и модифицирующим течение болезни фактором является климат. Резкие изменения температуры и влажности окружающей среды оказывают значимое воздействие на органы дыхания [1–3]. Влияние климата также проявляется в сезонности заболеваемости ОРВИ, обострений хронической респираторной патологии [4]. Воздействие холодного и влажного воздуха сопровождается включением цепи патологических реакций, обуславливающих, с одной стороны, снижение резистентности дыхательных путей к действию аэрополлютантов и вирусов, с другой – нарушение многообразных функций лёгких, в первую очередь, газообменной функции [5].

Большая продолжительность холодного периода года характерна для части регионов России, а также ряда северо-восточных и северо-западных стран мира. Основной чертой континентального климата этих территорий является значимое понижение температуры атмосферного воздуха ниже -20°C. Вдыхание холодного воздуха сопровождается появлением у высокочувствительных лиц чрезмерной спастической реакции бронхов и проявляется различными респираторными симптомами [2–6].

Наряду с низкой температурой воздуха большое значение в поддержании внутрилегочного гомеостаза имеет влажность атмосферного воздуха. Изменения влажности воздуха в условиях континентального климата носят циклический характер, связанный с сезонами года. Вследствие этих колебаний может наблюдаться нарушение осмотического равновесия в

стенке бронха, приводящее к бронхоконстрикции, что существенно ограничивает пребывание человека в условиях душно-влажной погоды [1, 2, 7].

Как показали исследования, более 10% здоровых лиц имеют генетическую предрасположенность к развитию холодовой и осмотической гиперреактивности дыхательных путей. По клиническим данным, порядка 10-50% здоровых людей испытывают различные респираторные симптомы при контакте с холодом и высокой влажностью окружающего воздуха [8–10]. Ещё более высока их распространённость среди больных с хроническими заболеваниями органов дыхания, которая достигает 40-75% у больных хроническим бронхитом и ХОБЛ, до 87% у больных бронхиальной астмой [6, 9, 11–14]. Кроме того, свыше 30% больных с хроническими обструктивными болезнями органов дыхания сочетано реагируют на высокую влажность и низкую температуру атмосферного воздуха, что проявляется холодовой и осмотической гиперреактивностью дыхательных путей.

Восприятие человеком холода в сочетании с высокой влажностью окружающей среды, либо в каждом отдельном случае, отличается своим клиническим многообразием и сезонной флюктуацией [1, 2, 7, 15–17]. Многолетнее наблюдение за больными хроническими болезнями органов дыхания, а также анализ мировой литературы показали не только большую распространённость респираторных симптомов на воздействие холода, либо повышенной влажности воздуха, но и различия в клинических проявлениях, характере реагирования [1, 2, 9].

Основным диагностическим методом подтверждения холодовой и осмотической гиперреактивности ды-

хательных путей является проведение бронхопровокационных проб, которые дают количественную оценку реакции бронхов и определяют степень её выраженности на низкотемпературный и влажностный стимул. Трудоемкость и невысокая пропускная способность описанных инструментальных тестов для выявления холодовой/осмотической гиперреактивности дыхательных путей ставит вопрос о необходимости использования альтернативных вариантов выявления лиц, чувствительных к холоду и повышенной (пониженной) влажности, основанных на оценке субъективных ощущений, возникающих в холодный и душно-влажный сезоны года. В качестве такого метода может служить клиничко-anamnestическое тестирование, которое заключается в предварительном сборе информации по выявлению экзогенных факторов, приводящих к ухудшению состояния, выделением наиболее чувствительных клинических признаков формирования холодовой/осмотической гиперреактивности бронхов с последующей объективизацией при помощи выполнения бронхопровокационных тестов.

Цель работы заключалась в оценке информации, полученной путём анкетного опроса и определении основных клинических критериев холодовой и осмотической гиперреактивности дыхательных путей.

Материалы и методы исследования

Планируемое исследование было одобрено локальным Комитетом по биомедицинской этике Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания (протокол №121 от 25.10.17) с соблюдением Федерального закона 323-ФЗ от 21 ноября 2011 г. «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» (с изменениями от 25 июня 2012 г.) и требований Хельсинкской декларации (Этические принципы проведения медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта, WMA Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013). Все участники подписывали протокол согласия после предварительного знакомства с ним. Планируемая работа носила одномоментный наблюдательный характер. Критерии включения больных в исследование: возраст от 20 до 60 лет; документально подтверждённый клинический диагноз лёгкой или среднетяжёлой персистирующей бронхиальной астмы не менее одного года [18]; объем форсированного выдоха за первую секунду ($ОФВ_1$) на момент тестирования более 70% должной величины; добровольное согласие пациента на участие в исследовании, заверенное подписью респондента и исследователя. Критерии исключения: наличие сопутствующей патологии, которая могла повлиять на результаты исследования; наличие острых респираторных заболеваний и обострения астмы в течение предшествующих 4 недель.

В исследовании приняли участие 191 человек (67 мужчин, 124 женщины) европеоидной расы, средний возраст $41,6 \pm 1,1$ лет, рост $167,8 \pm 0,9$ см, вес $78,1 \pm 1,6$ кг.

Дизайн работы включал в себя физикальный осмотр; базовую оценку функции внешнего дыхания; анкетный опрос больных по выявлению клинических симптомов реагирования на низкую температуру и высокую влажность воздуха в повседневной жизни и после выполнения острых бронхопровокационных проб: 3-минутной изокапнической гипервентиляции холодным (-20°C) воздухом (ИГХВ) и ультразвуковой 3-минутной ингаляции дистиллированной воды (ИДВ). Все исследования больным проведены в условиях лаборатории функциональной диагностики под длительным контролем медицинского персонала.

При анкетировании особое внимание уделялось ответам на вопросы по большому спектру респираторных симптомов со стороны верхних и нижних дыхательных путей, реакции тела, при прямом действии холода и/или высокой влажности зимой и летний период года. Кроме того, были затронуты вопросы о клинической симптоматике на другие неспецифические стимулы: переносимость физической нагрузки, реагирование на физико-химические поллютанты и т.д. Оценивались аллергологические особенности, наследственный анамнез, профессиональные вредности, факт курения и социальный статус обследуемого.

Спирометрия выполнялась на аппарате Easy on-PC (ndd Medizintechnik AG, Швейцария) с оценкой параметров кривой поток-объем форсированного выдоха ($ОФВ_1$, $СОС_{25-75}$) по стандартной методике [19, 20]. Инструментальное исследование холодовой и осмотической гиперреактивности дыхательных путей проводилось последовательно, на протяжении двух дней, в первую половину суток, в соответствии с существующими международными протоколами. В день тестирования до проведения бронхопровокационной пробы в промежутке 1,5-2 часов ограничивался приём горячей пищи и напитков, запрещалась физическая нагрузка, контакт с холодом, аэрополлютантами, проведение любых ингаляций, изменение местонахождения. Перед тестированием больных просили воздерживаться от приёма бронхолитических препаратов, комбинированных ингаляционных противовоспалительных средств (ингаляционных кортикостероидов и длительно действующих β_2 -агонистов), как минимум за 6-24 часов до предполагаемого тестирования [21, 22].

Тест ИДВ включал в себя две последовательные 3-минутные ингаляции: первая – стерильного раствора 0,9% NaCl, вторая – дистиллированной воды. Объем и температура ингалируемых растворов были стандартизованы для всех больных. Спирометрические исследования выполнялись перед началом бронхопровокации, после ингаляции 0,9% NaCl, на 1-й и 5-й минутах восстановительного периода [2, 21].

Тест ИГХВ проводился путём 3-минутной эукапнической гипервентиляции холодным воздухом (-20°C , 5% CO_2) на уровне 60% должной максимальной вентиляции лёгких. Спирометрический контроль осуществ-

лялся перед началом провокации, на 1-й и 5-й минутах восстановительного периода [2].

Реакцию дыхательных путей оценивали по изменению $ОФВ_1$ (Δ , %). Диагноз холодовой/осмотической гиперреактивности дыхательных путей выставлялся при падении $ОФВ_1$ на 10% и более от исходной величины [2]. По завершении бронхопровокационных тестов лицам с развившимся бронхоспазмом проводилась ингаляция аэрозоля сальбутамола в дозе 400 мкг с целью купирования приступа.

Статистический анализ полученных данных проводили на основе стандартных методов вариационной статистики. Для определения достоверности различий в случае нормального распределения выборки использовали критерий t (Стьюдента). Анализ распространённости признака в сравниваемых группах (частота альтернативного распределения) проводили по критерию χ^2 (К.Пирсона) для четырёхпольной таблицы. Для всех величин принимали во внимание уровень значимости (p) равный 0,05 и меньше.

Результаты исследования и их обсуждение

Целенаправленный опрос больных, касающийся субъективных ощущений, восприятия низкой температуры и высокой влажности атмосферного воздуха, позволил объективизировать полученную информацию и

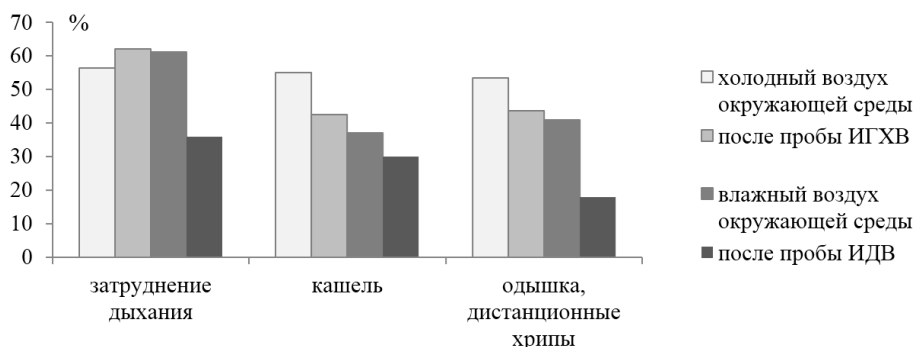


Рис. Основные клинические жалобы больных на вдыхание холодного/влажного воздуха в повседневной жизни и в экспериментальных условиях при проведении острых бронхопровокационных проб.

Специфичным для большинства испытуемых с гиперреактивностью дыхательных путей являлось удушье и/или затруднение дыхания. Как видно из представленных таблиц, основным описываемым симптомом в повседневной жизни (табл. 1, 2) и в процессе бронхопровокационного тестирования было затруднение дыхания.

У больных с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей (табл. 1) наблюдали высокую частоту появления респираторных симптомов при контакте с холодом в зимний период года. Как показало анкетирование, прямое действие низких температур выступало провоцирующим агентом, вызывающим у подавляющего числа обследованных лиц затруднение дыхания от лёгкого до тяжёлого. Наряду с этим, почти у 90% больных с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей возникала или усиливалась одышка,

выделить ряд основных и второстепенных признаков, которые наилучшим образом характеризуют клиническое течение холодовой и осмотической гиперреактивности дыхательных путей.

Из всех заданных вопросов были оставлены те, которые в наибольшей степени имели отношение к патологическому типу реагирования на воздействие холодного и/или влажного воздуха. Признак распределялся по тяжести и относительной частоте его встречаемости в натуральных и лабораторных условиях, а также по характеру ответа на холодовую либо осмотическую бронхопровокацию, при которой каждый симптом оценивался как лёгкий, умеренный, тяжёлый и очень тяжёлый, либо как отсутствие жалоб (рис.).

Далее респонденты были распределены по характеру ответа на проводимые тесты, в отдельные группы выделены лица с холодовой ($\Delta ОФВ_{1ИГХВ} -19,3 \pm 1,4\%$, $n=68$), осмотической ($\Delta ОФВ_{1ИДВ} -17,3 \pm 1,2\%$, $n=65$) гиперреактивностью дыхательных путей и лица с отсутствием реакции бронхов на провоцирующие агенты ($\Delta ОФВ_{1ИГХВ} -7,5 \pm 1,3\%$, $\Delta ОФВ_{1ИДВ} -2,4 \pm 0,5\%$, $n=58$). Из всего спектра жалоб определены шесть основных патологических симптомов, которые наиболее полно характеризовали ощущения респондентов при контакте с воздействующим триггером.

выраженность которой зависела от исходного состояния больного и уровня выполняемой им повседневной нагрузки. Почти 80% больных с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей в холодный период года нуждались в частых дополнительных приёмах бронходилататоров короткого действия (КДБА). Большая часть пациентов, имеющая холодовую гиперреактивность дыхательных путей, при контакте с холодным воздухом отмечала приступы кашля, различного по характеру и появление слышимых хрипов из грудной клетки.

В таблице 2 приведена частота проявления клинически значимых респираторных симптомов, возникающих в ответ на повышение относительной влажности атмосферного воздуха. Пациенты с осмотической гиперреактивностью дыхательных путей достоверно чаще испытывали эпизоды затруднённого дыхания, от-

мечали появление или усиление одышки при выполнении своей повседневной нагрузки, а также слышимых хрипов. Более 60% больным приходилось чаще использовать препараты неотложной помощи для купиро-

рования симптомов. Реже всего во влажный летний период они отмечали появление заложенности носа и слизистого отделяемого из носа (насморк).

Таблица 1

Частота встречаемости клинических симптомов при контакте с холодным воздухом в повседневной жизни

Симптомы (в % от числа в группе)	Лица с положительной реакцией на пробу ИГХВ	Лица с отрицательной реакцией на пробу ИГХВ
Удушье и/или затруднённое дыхание	88,2	21,3 ($\chi^2=55,93$; $p<0,001$)
Кашель	64,7	44,3 ($\chi^2=4,64$; $p<0,05$)
Одышка	89,7	16,4 ($\chi^2=66,91$; $p<0,001$)
Дистанционные хрипы	66,2	31,1 ($\chi^2=14,41$; $p<0,001$)
Увеличение приёма КДБА	77,9	26,2 ($\chi^2=32,5$; $p<0,001$)
Заложенность носа, насморк	82,4	73,8 ($p>0,05$)

Таблица 2

Частота встречаемости клинических симптомов при контакте с влажным воздухом в повседневной жизни

Симптомы (в % от числа в группе)	Лица с положительной реакцией на пробу ИГХВ	Лица с отрицательной реакцией на пробу ИГХВ
Удушье и/или затруднённое дыхание	64,7	41,0 ($\chi^2=6,35$; $p<0,05$)
Кашель	44,1	26,2
Одышка	61,8	27,9 ($\chi^2=13,55$; $p<0,01$)
Дистанционные хрипы	50	31,1 ($\chi^2=3,97$; $p<0,05$)
Увеличение приёма КДБА	63,2	37,7 ($\chi^2=7,4$; $p<0,01$)
Заложенность носа, насморк	38,2	47,5
Першение в горле, осиплость голоса	44,1	49,2

Был проведён количественный анализ тяжести симптомов, появляющихся в повседневной жизни при контакте холодным и/или влажным воздухом (табл. 3, 4). Оказалось, что более 79% опрошенных лиц с гиперреактивностью дыхательных путей часто либо постоянно испытывают эпизоды затруднения дыхания под воздействием холода и свыше 50% человек – при вдыхании воздуха высокой влажности. Другие три симптома (кашель, одышка, дистанционные хрипы) являлись менее специфичными, тогда как заложенность носа и першение в горле имели невысокую предсказательную ценность и были характерны для лиц, не реагировавших на стимулы.

Чтобы понять, насколько клинически значимы полученные результаты, была просчитана чувствительность и специфичность каждого из симптомов отдельно, позволившая определить предсказательную ценность их для постановки диагноза (табл. 5, 6). Чувствительность – это доля пациентов с симптомами, которые были точно идентифицированы с помощью бронхопровокационного теста. Этот показатель рассчитывается как отношение истинно положительных к

сумме истинно положительных и ложноотрицательных результатов. Специфичность – это доля пациентов, не имеющих симптомов, которые были идентифицированы с помощью бронхопровокационного теста. Рассчитывается данный показатель как отношение истинно отрицательных к сумме ложноположительных и истинно отрицательных результатов.

Обнаружена высокая ценность симптома «удушьё и затруднение дыхания» как одного из главных в диагностике синдрома холодовой гиперреактивности дыхательных путей, чувствительность и специфичность которого составила 88,2 и 86,9% (табл. 5). В плане выявления осмотической гиперреактивности дыхательных путей чувствительность и специфичность данного признака была несколько ниже и составила 67,4 и 59,0% (табл. 6). Предсказательная ценность возрастала, когда в оценочную шкалу включили помимо симптома «удушьё и затруднённое дыхание» такой важный симптом, как появление дистанционных слышимых хрипов при воздействии осмотического триггера, чувствительность и специфичность в данном случае составили 88,4 и 85,3%.

Таблица 3

Тяжесть клинических симптомов на воздействие холодного атмосферного воздуха у лиц с гиперреактивностью дыхательных путей

Симптомы (в %)	никогда	редко	часто	постоянно
Удушье и/или затруднённое дыхание	11,8	8,8	54,4	25,0
Кашель	35,3	33,8	23,5	7,4
Одышка	13,2	29,4	39,7	17,7
Дистанционные хрипы	33,8	35,3	23,5	7,4
Заложенность носа, насморк	17,7	14,7	42,6	25,0

Таблица 4

Тяжесть клинических симптомов на воздействие высокой влажности атмосферного воздуха у лиц с гиперреактивностью дыхательных путей

Симптомы (в %)	никогда	редко	часто	постоянно
Удушье и/или затруднённое дыхание	32,4	17,7	27,9	22,1
Кашель	55,9	28	11,8	4,4
Одышка	38,2	20,6	17,6	20,6
Дистанционные хрипы	50,0	13,2	25,0	11,8
Заложенность носа, насморк	61,8	19,1	16,2	2,9
Першение в горле, осиплость голоса	55,9	22,1	16,2	5,9

Таблица 5

Клиническая чувствительность и специфичность признака для диагностики холодовой гиперреактивности дыхательных путей

Симптомы (в %)	Чувствительность	Специфичность
Удушье и/или затруднённое дыхание	88,2	86,9
Кашель	64,7	55,7
Одышка	89,7	83,6
Дистанционные хрипы	66,2	68,8
Заложенность носа, насморк	82,4	26,2

Таблица 6

Клиническая чувствительность и специфичность признака для диагностики осмотической гиперреактивности дыхательных путей

Симптомы (в %)	Чувствительность	Специфичность
Удушье и/или затруднённое дыхание	67,4	59,0
Кашель	44,1	55,7
Одышка	61,8	83,6
Дистанционные хрипы	50,0	68,9
Заложенность носа, насморк	38,2	52,5
Першение в горле, осиплость голоса	44,1	50,8

На основе полученных данных, с учётом чувствительности и специфичности каждого признака были разработаны две оценочные скрининг-анкеты (табл. 7, 8), содержащие ключи для быстрой постановки диаг-

ноза холодовой и осмотической гиперреактивности дыхательных путей по совокупности клинических симптомов, описанных выше. При утвердительных ответах на вопросы пп. 1 и/или 2 выставлялся диагноз

холодовой/осмотической гиперреактивности дыхательных путей. В случае утвердительного ответа на остальные вопросы диагноз подтверждался либо исключался

после проведения бронхопровокационных проб ИГХВ, ИДВ.

Таблица 7

Тест по выявлению чувствительности к холоду

1	Зимой на улице, при вдыхании холодного воздуха я испытываю удушье (не могу сделать вдох и выдох) (ДА/НЕТ)
2	Зимой на улице, при вдыхании холодного воздуха появляются затруднённое дыхание, свистящие хрипы, не могу сделать полноценный (полный) вдох или выдох (ДА/НЕТ)
3	Зимой на улице, при вдыхании холодного воздуха появляется одышка (учащённое дыхание) при быстрой ходьбе или физической работе (ДА/НЕТ)
4	Зимой на улице, при вдыхании холодного воздуха появляется приступообразный кашель (ДА/НЕТ)
5	Зимой на улице, при вдыхании холодного воздуха появляется скованность в груди, боль в груди (ДА/НЕТ)
6	Когда перехожу с холода в тепло тяжело дышать, появляется свист при дыхании, кашель (ДА/НЕТ)
7	Тяжело дышать, появляется свист при дыхании, когда меняется погода, когда сильный ветер, когда идёт дождь, когда туман (ДА/НЕТ)
8	Когда умываюсь холодной водой, когда рядом работает кондиционер, появляется кашель, тяжело дышать (ДА/НЕТ)
9	Зимой при контакте с холодом сильно краснеет лицо и руки, появляется отёчность, зуд, жжение; высыпания на коже (ДА/НЕТ)

Таблица 8

Тест по выявлению чувствительности к влажности

1	При увеличении влажности воздуха (сырая погода, затяжной дождь, сильный туман) я испытываю удушье (не могу сделать вдох и выдох) (ДА/НЕТ)
2	При увеличении влажности воздуха появляются затруднённое дыхание, свистящие хрипы, не могу сделать полноценный (полный) вдох или выдох (ДА/НЕТ)
3	Во влажную погоду при быстрой ходьбе или физической работе появляется одышка (затруднение дыхания) (ДА/НЕТ)
4	При увеличении влажности воздуха появляется приступообразный кашель, скованность и боль в груди (ДА/НЕТ)
5	При увеличении влажности воздуха появляется насморк, заложенность носа, осиплость голоса, першение в горле (ДА/НЕТ)
6	Тяжело дышать, появляется свист при дыхании при резкой смене погоды (ДА/НЕТ)
7	Тяжело дышать, появляется свист при дыхании, когда долго моюсь в душе, принимаю горячую ванну, плаваю в бассейне, нахожусь в бане (русская, турецкая) с горячим влажным воздухом (ДА/НЕТ)
8	Тяжело дышать, появляется свист при дыхании, если нахожусь в помещении с высокой влажностью (влажные стены, сырой подвал, возможно после наводнения) (ДА/НЕТ)

Чтобы получить представление об эффективности использования разработанных скрининг-анкет для выявления лиц с высокой чувствительностью к холодному воздуху и высокой влажности атмосферного воздуха, а также отбора лиц, требующих инструментального подтверждения путём бронхопровокационного тестирования, был проведён анкетный опрос 840 работников Амурского газоперерабатывающего завода (г. Свободный, Амурская область), чья профессиональная деятельность связана с длительным воздействием низкой температуры, высокой влажности в условиях выполнения тяжёлой физической нагрузки.

Из 840 респондентов, прошедших тестирование, по клиническим данным холодная гиперреактивность дыхательных путей была выявлена у 20 человек (2,4%); осмотическая гиперреактивность бронхов у 16 (1,9%), Кроме того 14 респондентам (1,7%) потребовалась верификация диагноза путём проведения бронхопровокационной пробы ИГХВ и 20 (2,4%) – пробы ИДВ.

Заключение

Полученная в результате анкетирования информация имеет важное значение в плане оценки здоровья

населения, проживающего на северо-восточных и северо-западных территориях страны, а также контингента лиц, привлекаемых для работы в суровых климатических условиях. Предложенные анкеты могут быть использованы для разработки программ профилактики людей, чья профессия связана с высоким риском респираторных инфекций при работе в холодных условиях, либо условиях высокой влажности. Превентивные меры должны быть направлены на своевременную противогриппозную и противопневмококковую вакцинацию, включать меры по ограничению времени воздействия холода и высокой влажности окружаю-

щего воздуха, защиту органов дыхания.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Источники финансирования

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

1. Перельман Ю.М., Наумов Д.Е., Приходько А.Г., Колосов В.П. Механизмы и проявления осмотической гиперреактивности дыхательных путей. Владивосток: Дальнаука, 2016. 240 с. ISBN 978-5-8044-1627-1
2. Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Колосов В.П. Гиперреактивность дыхательных путей. Владивосток: Дальнаука, 2011. 204 с. ISBN 978-5-8044-1220-4
3. Луценко М.Т., Целуйко С.С., Самсонов В.П., Перельман Ю.М. и др. Заболевания органов дыхания в экстремальных экологических условиях Северо-Востока СССР. Благовещенск, 1990. 177 с.
4. Деркачева Л.Н. Медико-климатические условия Дальнего Востока и их влияние на респираторную систему // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2000. Вып. 6. С.51–54.
5. Перельман Ю.М., Колосов В.П., Приходько А.Г. Влияние климатических факторов на формирование и течение хронической обструктивной болезни легких // Хроническая обструктивная болезнь легких / под ред. А.Г.Чучалина. М.: Атмосфера, 2008. С.61–81.
6. Колосов В.П., Перельман Ю.М., Гельцер Б.И. Реактивность дыхательных путей при хронической обструктивной болезни лёгких. Владивосток: Дальнаука, 2006. 184 с.
7. Афанасьева Е.Ю., Приходько А.Г., Перельман Ю.М. Влияние влажности окружающей среды на клинико-функциональные особенности течения заболевания у больных бронхиальной астмой // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2020. Вып.76. С.19–26. <https://doi.org/10.36604/1998-5029-2020-76-19-26>
8. Приходько А.Г., Перельман Ю.М. Респираторный теплообмен и холодовая реактивность дыхательных путей у здоровых людей // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 1999. Вып.5. С.11–18.
9. Harju T., Mäkinen T., Näyhä S., Laatikainen T, Jousilahti P, Hassi J. Cold-related respiratory symptoms in the general population // Clin. Respir. J. 2010; Vol.4, №3. P.176–185. doi: 10.1111/j.1752-699X.2009.00172.x
10. Sue-Chu M. Winter sports athletes: long-term effects of cold air exposure // Br. J. Sports Med. 2012. Vol.46, №6. P.397–401. doi: 10.1136/bjsports-2011-090822
11. Хижняк Ю.Ю., Перельман Ю.М., Колосов В.П. Сезонная динамика проходимости и реактивности дыхательных путей у больных бронхиальной астмой в условиях муссонного климата // Тихоокеанский медицинский журнал. 2009. №1(35). С.82–84.
12. Kim Y.H., Jang T.Y. Usefulness of the subjective cold hyperresponsiveness scale as evaluated by cold dry air provocation // Am. J. Rhinol. Allergy. 2012. Vol.26, №1. P.45–48. doi: 10.2500/ajra.2012.26.3694
13. Koskela H.O. Cold air-provoked respiratory symptoms: The mechanisms and management // Int. J. Circumpolar Health. 2007; Vol.66, №2. P.91–100. doi: 10.3402/ijch.v66i2.18237
14. Millqvist E., Bengtsson U., Bake B. Occurrence of breathing problems induced by cold climate in asthmatics – a questionnaire survey // Eur. J. Respir. Dis. 1987. Vol.71, №5. P.444–449.
15. Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Колосов В.П., Ульянычев Н.В., Нарышкина С.В., Афанасьева Е.Ю. Особенности течения бронхиальной астмы у больных с изолированной и сочетанной гиперреактивностью дыхательных путей на холодовой и гипоосмотический стимулы // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2014. Вып.53. С.36–41.
16. Kwon J.W., Han Y.J., Oh M.K., Lee C.Y., Kim J.Y., Kim E.J., Kim H., Kim W.J. Emergency department visits for asthma exacerbation due to weather conditions and air pollution in Chuncheon, Korea: A case-crossover analysis // Allergy Asthma Immunol. Res. 2016. Vol.8, №6. P.512–521. doi: 10.4168/aa.2016.8.6.512
17. Sjöström R., Söderström L., Klockmo C., Patrician A., Sandström T., Björklund G., Hanstock H., Stenfors N. Qualitative identification and characterisation of self-reported symptoms arising in humans during experimental exposure to cold air Randomized Controlled Trial // Int. J. Circumpolar Health. 2019; Vol.78, №1. Article number 1583528. doi: 10.1080/22423982.2019.1583528
18. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (Updated 2020).

URL: <http://www.ginasthma.com>.

19. Pellegrino R., Viegi G., Brusasco V., Crapo R.O., Burgos F., Casaburi R., Coates A., Van der Grinten C.P.M., Gustafsson P., Hankinson J., Jensen R., Johnson D.C., MacIntyre N., McKay R., Miller M.R., Navajas D., Pedersen O.F., Wanger J. Interpretative strategies for lung function tests // *Eur. Respir. J.* 2005. Vol.26, №5. P.948–968. doi: 10.1183/09031936.05.00035205

20. Miller M.R., Hankinson J., Brusasco V., Burgos F., Casaburi R., Coates A., Crapo R., Enright P., van der Grinten C.P.M., Gustafsson P., Jensen R., Johnson D.C., MacIntyre N., McKay R., Navajas D., Pedersen O.F., Pellegrino R., Viegi G., Wanger J. Standardisation of spirometry // *Eur. Respir. J.* 2005. Vol.26, №2. P.319–338. doi: 10.1183/09031936.05.00034805

21. Sterk P.J., Fabbri L.M., Quanjer P.H., Cockcroft D.W., O'Byrne P.M., Anderson S.D., Juniper E.F., Malo J.L. Airway responsiveness. Standardized challenge testing with pharmacological, physical and sensitizing stimuli in adults. Report Working Party Standardization of Lung Function Tests, European Community for Steel and Coal. Official Statement of the European Respiratory Society // *Eur. Respir. J.* 1993; Vol.16. P.53–83.

22. Borak J., Lefkowitz R.Y. Bronchial hyperresponsiveness // *Occup. Med. (Lond)*. 2016; Vol.66(2):95–105. doi: 10.1093/occmed/kqv158

REFERENCES

1. Perelman J.M., Naumov D.E., Prikhodko A.G., Kolosov V.P. Mechanisms and manifestations of osmotic airway hyperresponsiveness. Vladivostok: Dal'nauka; 2016 (in Russian). ISBN 978-5-8044-1627-1

2. Prikhodko A.G., Perelman J.M., Kolosov V.P. Airway hyperresponsiveness. Vladivostok: Dal'nauka; 2011 (in Russian). ISBN 978-5-8044-1220-4

3. Lutsenko M.T., Tseluyko S.S., Samsonov V.P., Perelman J.M. et al. Respiratory diseases under extreme environmental conditions of the North-East of the USSR. Blagoveshensk: 1990 (in Russian).

4. Derkacheva L.N. Medical and climatic conditions of the Far Eastern region and their impact on respiratory system. *Bülleten' fiziologii i patologii dyhaniâ= Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2000; (6):51–54 (in Russian).

5. Perelman J.M., Kolosov V.P., Prikhodko A.G. The influence of climatic factors on the formation and course of chronic obstructive pulmonary disease. In: Chuchalin A.G., editor. Chronic obstructive pulmonary disease. Moscow: Atmosfera; 2008:61–81 (in Russian).

6. Kolosov V.P., Perelman J.M., Gel'tser B.I. Airway reactivity of chronic obstructive pulmonary disease. Vladivostok: Dal'nauka; 2006 (in Russian).

7. Afanaseva E.Yu., Prikhodko A.G., Perelman J.M. Influence of environmental humidity on clinical and functional features of the course of asthma. *Bülleten' fiziologii i patologii dyhaniâ= Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2020; (76):19–26 (in Russian). <https://doi.org/10.36604/1998-5029-2020-76-19-26>

8. Prikhodko A.G., Perelman J.M. Respiratory heat exchange and cold airway reactivity in healthy subjects. *Bülleten' fiziologii i patologii dyhaniâ= Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 1999; (5):11–18 (in Russian).

9. Harju T., Mäkinen T., Näyhä S., Laatikainen T, Jousilahti P, Hassi J. Cold-related respiratory symptoms in the general population. *Clin. Respir. J.* 2010; 4(3):176–185. doi: 10.1111/j.1752-699X.2009.00172.x

10. Sue-Chu M. Winter sports athletes: long-term effects of cold air exposure. *Br. J. Sports Med.* 2012; 46(6):397–401. doi: 10.1136/bjsports-2011-090822

11. Khizhniak J., Perelman J., Kolosov V. The seasonal dynamics of airway patency and reactivity in patients with bronchial asthma under monsoon climate conditions. *Pacific Medical Journal* 2009; (1):82–84 (in Russian).

12. Kim Y.H., Jang T.Y. Usefulness of the subjective cold hyperresponsiveness scale as evaluated by cold dry air provocation. *Am. J. Rhinol. Allergy* 2012; 26(1):45–48. doi: 10.2500/ajra.2012.26.3694

13. Koskela H.O. Cold air-provoked respiratory symptoms: The mechanisms and management. *Int. J. Circumpolar Health* 2007; 66(2):91–100. doi: 10.3402/ijch.v66i2.18237

14. Millqvist E., Bengtsson U., Bake B. Occurrence of breathing problems induced by cold climate in asthmatics – a questionnaire survey. *Eur. J. Respir. Dis.* 1987; 71(5):444–449.

15. Prikhodko A.G., Perelman J.M., Kolosov V.P., Ul'yanychev N.V., Naryshkina S.V., Afanas'eva E.Yu. Features of bronchial asthma clinical course in patients with isolated and combined airway hyperresponsiveness to cold and hyposmotic stimuli. *Bülleten' fiziologii i patologii dyhaniâ= Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2014; (53):36–41 (in Russian).

16. Kwon J.W., Han Y.J., Oh M.K., Lee C.Y., Kim J.Y., Kim E.J., Kim H., Kim W.J. Emergency Department Visits for Asthma Exacerbation due to Weather Conditions and Air Pollution in Chuncheon, Korea: A Case-Crossover Analysis. *Allergy Asthma Immunol. Res.* 2016; 8(6):512–521. doi: 10.4168/aaair.2016.8.6.512

17. Sjöström R., Söderström L., Klockmo C., Patrician A., Sandström T., Björklund G., Hanstock H., Stenfors N. Qualitative identification and characterisation of self-reported symptoms arising in humans during experimental exposure to cold air Randomized Controlled Trial. *Int. J. Circumpolar Health* 2019; 78(1):1583528. doi: 10.1080/

22423982.2019.1583528

18. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (Updated 2020). Available at: <http://www.ginasthma.com>.

19. Pellegrino R., Viegi G., Brusasco V., Crapo R.O., Burgos F., Casaburi R., Coates A., Van der Grinten C.P.M., Gustafsson P., Hankinson J., Jensen R., Johnson D.C., MacIntyre N., McKay R., Miller M.R., Navajas D., Pedersen O.F., Wanger J. Interpretative strategies for lung function tests. *Eur. Respir. J.* 2005; 26(5):948–968. doi: 10.1183/09031936.05.00035205

20. Miller M.R., Hankinson J., Brusasco V., Burgos F., Casaburi R., Coates A., Crapo R., Enright P., van der Grinten C.P.M., Gustafsson P., Jensen R., Johnson D.C., MacIntyre N., McKay R., Navajas D., Pedersen O.F., Pellegrino R., Viegi G., Wanger J. Standardisation of spirometry. *Eur. Respir. J.* 2005; 26(2):319–338. doi: 10.1183/09031936.05.00034805

21. Sterk P.J., Fabbri L.M., Quanjer P.H., Cockcroft D.W., O'Byrne P.M., Anderson S.D., Juniper E.F., Malo J.L. Airway responsiveness. Standardized challenge testing with pharmacological, physical and sensitizing stimuli in adults. Report Working Party Standardization of Lung Function Tests, European Community for Steel and Coal. Official Statement of the European Respiratory Society. *Eur. Respir. J.* 1993; 16:53–83.

22. Borak J., Lefkowitz R.Y. Bronchial hyperresponsiveness. *Occup. Med. (Lond)*. 2016; 66(2):95–105. doi: 10.1093/occmed/kqv158

Информация об авторах:

Author information:

Евгения Юрьевна Афанасьева, младший научный сотрудник, лаборатория функциональных методов исследования дыхательной системы, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: evgenyananev@yandex.ru

Evgeniya Yu. Afanas'eva, MD, Junior Staff Scientist, Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: evgenyananev@yandex.ru

Анна Григорьевна Приходько, д-р мед. наук, главный научный сотрудник, лаборатория функциональных методов исследования дыхательной системы, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: prih-anya@ya.ru

Anna G. Prikhodko, MD, PhD, D.Sc. (Med.), Main Staff Scientist, Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: prih-anya@ya.ru

Виктор Павлович Колосов, академик РАН, д-р мед. наук, профессор, научный руководитель Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: kolosov@amur.ru

Victor P. Kolosov, Academician of RAS, MD, PhD, D.Sc. (Med.), Professor, Scientific Director, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: kolosov@amur.ru

Александр Николаевич Гребенюк, д-р мед. наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»; e-mail: grebnyukan@nipigas.ru

Aleksandr N. Grebnyuk, MD, PhD, D.Sc. (Med.), Professor, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University; e-mail: grebnyukan@nipigas.ru

Юлий Михайлович Перельман, член-корреспондент РАН, д-р мед. наук, профессор, зам. директора по научной работе, зав. лабораторией функциональных методов исследования дыхательной системы, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: jperelman@mail.ru

Juliy M. Perelman, MD, PhD, D.Sc. (Med.), Corresponding member of RAS, Professor, Deputy Director on Scientific Work, Head of Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: jperelman@mail.ru

Поступила 12.11.2020

Received November 12, 2020

Принята к печати 27.11.2020

Accepted November 27, 2020

УДК 616.248(616.21/-24:616-008.6):616-073.96

DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-76-83

ДИСФУНКЦИЯ МАЛЫХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ И СОСТОЯНИЕ ЛЕГОЧНОЙ ФУНКЦИИ ПРИ ЛЕГКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ

Е.Е.Минеева, М.В.Антонюк, А.В.Юренко, Т.А.Гвозденко, А.А.Уксуменко

*Владивостокский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт
медицинской климатологии и восстановительного лечения, 690105, г. Владивосток, ул. Русская, 73г*

РЕЗЮМЕ. Цель. Оценить состояние легочной функции у пациентов легкой бронхиальной астмой (БА) в зависимости от состояния малых дыхательных путей. **Материалы и методы.** В исследование включено 114 пациентов с легкой БА частично контролируемого течения (средний возраст 45,12±2,18 лет). В зависимости от состояния малых дыхательных путей (МДП) пациенты были разделены на 2 группы: 1 группа – 94 больных БА без дисфункции МДП (82%); 2 группа – 20 больных БА с дисфункцией МДП (18%). Группу контроля составили 25 здоровых добровольцев. **Результаты.** В группе больных БА с дисфункцией МДП в сравнении со здоровыми лицами выявлено снижение практически всех показателей спирометрии, в 55% случаев диагностирована генерализованная бронхиальная обструкция. Характерным для больных БА, имеющих дисфункцию МДП, явилось снижение жизненной емкости легких (ЖЕЛ) на 16% ($p<0,001$) и Емкости вдоха (Евд.) на 14% ($p=0,005$) в сравнении с пациентами без дисфункции МДП. Данные показатели применяют для определения общей емкости легких (ОЕЛ=ЖЕЛ+ООЛ и ОЕЛ=Евд.+ФОЕ), где ООЛ – остаточный объем легких, ФОЕ – функциональная остаточная емкость легких. Отсюда следует, что в случае нормальных значений ОЕЛ, по данным спирометрии при снижении ЖЕЛ можно косвенно судить об увеличении ООЛ и формировании «воздушных ловушек», при снижении Евд. – об увеличении ФОЕ и развитии гиперинфляции легких. **Заключение.** Проведенное исследование показало, что у пациентов с легкой БА дисфункция МДП диагностирована в 18% случаев, и она вносит существенный вклад в изменение легочной функции. При легкой БА дисфункция МДП в у 55% больных сопровождается генерализованной бронхиальной обструкцией. При снижении ЖЕЛ и Евд. по данным спирометрии у пациентов с легкой БА можно косвенно судить о формировании «воздушных ловушек», развитии гиперинфляции легких, и, следовательно, дисфункции МДП.

Ключевые слова: бронхиальная астма, спирометрия, функция легких, бронхиальная обструкция, малые дыхательные пути.

SMALL AIRWAYS DYSFUNCTION AND THE STATE OF LUNG FUNCTION IN MILD ASTHMA

Е.Е.Mineeva, M.V.Antonyuk, A.V.Yurenko, T.A.Gvozdenko, A.A.Uksumenko

*Vladivostok Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of
Medical Climatology and Rehabilitative Treatment, 73g Russkaya Str., Vladivostok, 690105, Russian Federation*

SUMMARY. Aim. To assess the state of pulmonary function in patients with mild asthma, depending on the state of the small airways. **Materials and methods.** The study included 114 patients with partially controlled mild asthma (average age 45.12±2.18 years). Depending on the state of the small airways, patients were divided into two groups: first group – 94 patients without small airways dysfunction (SAD) (82%); second group – 20 patients with SAD (18%). The control group consisted of 25 healthy volunteers. **Results.** It was found that in the group of asthma patients with SAD, in compa-

Контактная информация

Елена Евгеньевна Минеева, канд. мед. наук, научный сотрудник лаборатории восстановительного лечения, Владивостокский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения, 690105, Россия, г. Владивосток, ул. Русская, 73 г. E-mail: elmineeva@yandex.ru

Correspondence should be addressed to

Elena E. Mineeva, MD, PhD (Med.), Staff Scientist of Laboratory of Rehabilitative Treatment, Vladivostok Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitative Treatment, 73g Russkaya Str., Vladivostok, 690105, Russian Federation. E-mail: elmineeva@yandex.ru

Для цитирования:

Минеева Е.Е., Антонюк М.В., Юренко А.В., Гвозденко Т.А., Уксуменко А.А. Дисфункция малых дыхательных путей и состояние легочной функции при легкой бронхиальной астме // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2020. Вып.78. С.76–83. DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-76-83

For citation:

Mineeva E.E., Antonyuk M.V., Yurenko A.V., Gvozdenko T.A., Uksumenko A.A. Small airways dysfunction and the state of lung function in mild asthma. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2020; (78):76–83 (in Russian). DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-76-83

risson with healthy, a decrease in almost all spirometry indicators was detected, and generalized bronchial obstruction was diagnosed in 55% of cases. Characteristic of asthma patients with SAD was a decrease in the vital capacity of the lungs (VC) by 16% ($p < 0.001$) and the inspiratory capacity (IC) – by 14% ($p = 0.005$) in comparison with patients without SAD. These indicators are used to determine the total lung capacity ($TLC = VC + RV$ and $TLC = IC + FRC$), where RV is the residual volume, and FRC is the functional residual capacity. It follows that in the case of normal values of TLC, according to spirometry data, with a decrease in VC, it is possible to indirectly judge an increase in RV and the formation of “air traps”, with a decrease in IC – an increase in FRC and the development of hyperinflation of the lungs. **Conclusion.** The study showed that in patients with mild asthma, SAD was diagnosed in 18% of cases, and it makes a significant contribution to changes in lung function. In mild asthma, SAD is accompanied by generalized bronchial obstruction in 55% of cases. With a decrease in VC and IC according to spirometry data in patients with mild asthma, it is possible to indirectly judge the formation of “air traps”, the development of lung hyperinflation, and consequently, the small airways dysfunction.

Key words: bronchial asthma, spirometry, lung function, bronchial obstruction, small airways.

Традиционно бронхиальная астма (БА) рассматривалась как заболевание крупных и средних бронхов, однако за последнее время получены убедительные данные, свидетельствующие об активном участии малых дыхательных путей (МДП) в патогенезе астмы [1, 2]. Известно, что при БА поражаются не только центральные бронхи, но и МДП – бронхи с внутренним диаметром менее 2 мм [3].

Роль МДП в патофизиологии астмы продолжает уточняться. Первый систематический обзор литературы, выполненный O.S.Usmani et al. [4] с целью определения распространенности поражения МДП у взрослых пациентов с астмой показал, что дисфункция МДП имеется у 50-60% больных БА вне зависимости от степени тяжести заболевания, включая пациентов с нормальными показателями объема форсированного выдоха за 1-ю секунду ($ОФВ_1$) и с отсутствием обструкции в проксимальных бронхах.

По данным литературы дисфункция МДП является у подавляющего большинства пациентов, страдающих БА, и в настоящее время рассматривается как важное патогенетическое звено данного заболевания [5]. Большая часть исследований, демонстрирующих повреждение МДП, проведена при тяжелой БА [6, 7]. Дисфункция МДП предопределяет неконтролируемое течение БА, что позволяет считать ее важной терапевтической мишенью [8]. Своевременная диагностика дисфункции МДП у больных легкой БА позволит достичь контроля данного заболевания за счет применения мелкодисперсных ингаляционных средств [9]. Оценка состояния МДП имеет важное значение, особенно на ранних стадиях заболевания при отсутствии выраженной клинической симптоматики и нахождении параметров обычных функциональных тестов в пределах нормального диапазона.

Цель исследования – оценить состояние легочной функции у пациентов с легкой БА в зависимости от состояния малых дыхательных путей.

Материалы и методы исследования

Работа выполнена в дизайне проспективного одноцентрового сравнительного исследования. В исследование включено 114 пациентов с БА легкой степени тяжести, частично контролируемого течения (средний возраст $45,12 \pm 2,18$ лет). Группу контроля составили 25

добровольцев без бронхолегочной патологии, сопоставимые по полу и возрасту. Исследование осуществлено в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации (пересмотр 2013 г.) с одобрения локального Этического комитета на условиях добровольного информированного согласия.

Диагноз БА установлен в соответствии с классификацией и критериями международного консенсуса по вопросам диагностики и лечения БА [10]. Все пациенты получали базисную медикаментозную терапию фиксированной комбинацией ингаляционных глюкокортикостероидов в низкой дозе (будесонид 200-400 мкг/сутки) и β_2 -агонистов длительного действия.

Критерии включения в исследование: БА легкой степени тяжести, частично контролируемого течения, возраст от 20 до 50 лет. Критерии исключения из исследования: БА неконтролируемая, среднетяжелого и тяжелого течения, хроническая обструктивная болезнь легких, профессиональные заболевания бронхолегочной системы, заболевания внутренних органов в стадии декомпенсации.

Клинико-лабораторное обследование проводили в соответствии со стандартами обследования пульмонологических больных. Исследование функции внешнего дыхания (ФВД) проводили на аппарате Master Screen Body (Erich Jaeger, Германия). По данным спирометрии оценивали жизненную емкость легких (ЖЕЛ), емкость вдоха (Е вд.), форсированную жизненную емкость легких (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха за первую секунду ($ОФВ_1$), процентное соотношение $ОФВ_1$ к ЖЕЛ ($ОФВ_1/ЖЕЛ$), процентное соотношение $ОФВ_1$ к ФЖЕЛ ($ОФВ_1/ФЖЕЛ$), максимальную объемную скорость при выдохе 25% ФЖЕЛ ($МОС_{25}$), максимальную объемную скорость при выдохе 50% ФЖЕЛ ($МОС_{50}$), максимальную объемную скорость при выдохе 75% ФЖЕЛ ($МОС_{75}$), среднюю объемную скорость в интервале выдоха от 25 до 75% ФЖЕЛ ($СОС_{25-75}$) до применения бронходилататора. Для исследования обратимости обструкции применяли пробу с сальбутамолом (400 мкг). С помощью бодиплетизмографии на аппарате Master Screen Body (Erich Jaeger) оценивали статические легочные объемы и емкости: функциональную остаточную емкость (ФОЕ), остаточный объем легких (ООЛ), общую емкость легких (ОЕЛ), процентное соотношение $ООЛ/ОЕЛ$ и бронхиальное

сопротивление на вдохе (Сопр. вд.) и выдохе (Сопр. выд.).

Критерием дисфункции МДП по данным бодиплетизмографии было принято наличие «воздушных ловушек» (увеличение ООЛ более 140% и доли ООЛ в структуре ОЕЛ – более 125% от должных значений) и признаков гиперинфляции (увеличение ФОЕ более 120% от должного) [11].

При анализе параметров легочной функции использовали должные значения, рассчитанные по формулам, рекомендуемым совместным соглашением Европейского респираторного общества (ERS) и Американского торакального общества (ATS) 2005 г. Результаты выражены в процентах от должного значения (полученное значение/должное значение×100%) [12].

Для определения уровня контроля над заболеванием использовали тест ACQ-5 (Asthma Control Questionnaire), количество баллов от 0,75 до 1,5 свидетельствовало о частично контролируемой БА.

Полученные данные обрабатывали с использованием прикладной программы Statistica 6.1. Результаты статистической обработки представлены в виде средней арифметической (M) и ошибки среднего арифметического измерения (m). Статистическую значимость различий между группами оценивали при нормальном

распределении с помощью t-критерия Стьюдента, при ненормальном распределении – с помощью критерия Манна-Уитни. Различия считались достоверными при уровне значимости более 95% (p<0,05).

Результаты исследования и их обсуждение

На современном этапе нет принятого стандарта диагностики поражения МДП. В предварительных результатах международного исследования ATLANTIS указывается, что дисфункция МДП выявлена у большинства пациентов с БА. Распространенность дисфункции при астме зависела от используемых методов исследования и критериев диагностики [13]. В проведенном нами исследовании состоянии МДП исследовали методом бодиплетизмографии, а дисфункцию МДП выявляли по изменению ООЛ, ФОЕ и ООЛ/ОЕЛ. По литературным данным показатели распространенности дисфункции МДП, выявленной методом плевтизмографии, варьируют от 20 до 64% [4]. В настоящем исследовании среди пациентов с легкой БА признаки дисфункции МДП, а именно «воздушные ловушки» (увеличение ООЛ более 140%, ООЛ/ОЕЛ – более 125% от должных значений) и гиперинфляция (увеличение ФОЕ более 120% от должного) выявлены у 20 пациентов (18% случаев).

Таблица 1

Клиническая характеристика больных БА (n=114)

Признаки		1 группа (n=94)	2 группа (n=20)
Возраст, лет		41,81±1,41	45,11±4,38
Пол	мужской	35 (37%)	9 (45%)
	женский	59 (63%)	11 (55%)
Курение		11(12%)	3(15%)
Масса тела	нормальная	64 (68%)	9 (45%)
	ожирение	30 (32%)	11 (55%)
Давность заболевания	1-5 лет	52 (55%)	4 (20%)
	более 5 лет	42 (45%)	16 (80%)
Наследственность	не отягощена	38 (40%)	4(20%)
	отягощена по БА	56 (60%)	16 (80%)
Бронхиальная обструкция	нет	75 (80%)	9 (45%)
	есть	19 (20%)	11 (55%)
ACQ-5 тест		1,1±0,05	1,35±0,08

В зависимости от состояния МДП больные были разделены на 2 группы: 1 группа – 94 пациента с БА без дисфункции МДП; 2 группа – 20 больных БА с дисфункцией МДП. Клиническая характеристика пациентов представлена в таблице 1. Развитие дисфункции МДП у пациентов с легкой БА (2 группа) наблюдалось преимущественно при давности заболевания более 5 лет (80% случаев) у больных с отягощенной наслед-

ственностью по БА (в 80% случаев). Пациенты с ожирением во 2 группе встречались в 55% случаев, в то время как в 1 группе только в 32% случаев. Дисфункция МДП при легкой БА практически не зависела от пола, возраста, массы тела, вредных привычек (курение) пациентов и сопровождалась бронхиальной обструкцией только в 55% случаев. По данным литературы дисфункция дистальных отделов дыха-

тельных путей у больных БА не всегда сопровождается бронхиальной обструкцией, поскольку вклад МДП в суммарное сопротивление воздушному потоку не превышает 10%. Когда просвет дыхательных путей сужается, участие МДП в повышении сопротивления существенно возрастает [14]. В нашем исследовании сопротивление в дыхательных путях было значительно повышено с преобладанием сопротивления на выдохе (табл. 2). Так, сопротивление на входе у больных с дисфункцией МДП по сравнению с контрольными значе-

ниями было увеличено в 1,9 раза, по сравнению с больными БА без дисфункции – в 1,5 раза; сопротивление на выдохе – в 2,9 и 1,9 раза, соответственно. В зависимости от метода исследования показатели сопротивления могут быть существенно выше. В работе E.M.Wagner et al. [15] с помощью эндобронхиальной катетеризации было выявлено, что у пациентов с легкой БА и нормальными показателями спирометрии периферическое сопротивление было повышено в 7 раз по сравнению с показателем здоровых добровольцев.

Таблица 2

Характеристика показателей ФВД у пациентов с легкой БА в зависимости от состояния МДП (M±m)

Параметры ФВД	Контрольная группа (n=25)	1 группа (n=94)	2 группа (n=20)
ЖЕЛ, % долж.	110,52±2,78	111,33±1,53	93,63±2,54 p<0,001; p ₁ <0,001
Евд., % долж.	108,28±3,61	117,21±2,74	101,04±4,92 p ₁ =0,005
ФЖЕЛ, % долж.	110,31±2,81	109,93±1,72	91,67±2,69 p<0,001; p ₁ <0,001
ОФВ ₁ , % долж.	104,45±2,31	98,92±1,52 p=0,005	75,52±4,12 p<0,001; p ₁ <0,001
ОФВ ₁ /ЖЕЛ, %	77,57±1,48	79,48±1,28	66,72±3,12 p=0,003; p ₁ <0,001
ОФВ ₁ /ФЖЕЛ, %	80,37±1,35	76,19±0,79 p=0,009	69,02±2,98 p=0,001; p ₁ =0,022
МОС ₂₅ , % долж.	101,03±3,74	90,76±2,65 p=0,032	52,96±6,05 p<0,001; p ₁ <0,001
МОС ₅₀ , % долж.	87,13 ±4,53	68,95±2,53 p=0,006	43,94±6,26 p<0,001; p ₁ <0,001
МОС ₇₅ , % долж.	63,21±5,42	49,56±2,31 p=0,02	32,56±7,32 p=0,001; p ₁ =0,032
СОС ₂₅₋₇₅ , % долж.	77,67±4,43	62,52 ±2,38 p=0,003	40,77±6,28 p<0,001; p ₁ =0,002
Сопр. вдоха, кПа·с/л	0,18±0,02	0,23±0,01 p=0,031	0,35±0,06 p=0,012; p ₁ =0,053
Сопр. выдоха, кПа·с/л	0,23±0,02	0,35±0,03 p=0,001	0,67±0,14 p=0,003; p ₁ =0,034
ФОЕ, % долж.	107,02±3,24	101,35±1,85	128,37±4,45 p<0,001; p ₁ <0,001
ООЛ, % долж.	100,03±3,23	102,49±2,21	160,21±5,71 p<0,0014 p ₁ <0,001
ОЕЛ, % долж.	101,48±2,31	104,69±1,26	109,26±2,71 p=0,03
ООЛ/ОЕЛ, %	94,66±2,45	95,28±1,58	142,79± 3,56 p<0,001; p ₁ <0,001

Примечание: p – статистическая значимость различий по сравнению с группой контроля; p₁ – статистическая значимость различий между 1 и 2 группами.

К «фенотипу бронхиальной астмы с поражением МДП» относят больных с нормальными показателями $ОФВ_1$, дисфункцией МДП и худшим контролем заболевания [14]. Следует отметить, что в 1 группе параметры легочной функции по данным спирометрии и бодиплетизмографии находились в диапазоне должных значений (табл. 2). Тем не менее, в сравнении с контрольной группой статистически значимо были снижены показатели бронхиальной проходимости: $ОФВ_1$ и $ОФВ_1/ФЖЕЛ$ снижены на 5%, $МОС_{75}$ на 10%, $МОС_{50}$ на 21%, $МОС_{25}$ на 22% и $СОС_{25-75}$ на 20%. В 1 группе было также выявлено увеличение бронхиального сопротивления на вдохе в 1,3 раза и на выдохе в 1,5 раза по сравнению с группой контроля, что свидетельствует о генерализованном нарушении бронхиальной проходимости.

В группе больных БА с дисфункцией МДП (2 группа) по данным спирометрии была выявлена легкая обструкция, которая характеризовалась снижением $ОФВ_1$, $ОФВ_1/ЖЕЛ$ и $ОФВ_1/ФЖЕЛ$ (табл. 2). В сравнении с контрольной группой данные показатели были статистически значимо снижены: $ОФВ_1$ на 28%, $ОФВ_1/ЖЕЛ$ и $ОФВ_1/ФЖЕЛ$ на 14%. Скоростные показатели также были статистически значимо снижены ($МОС_{25}$ на 48%, $МОС_{50}$ на 50%, $МОС_{75}$ и $СОС_{25-75}$ на 48%). В качестве показателя обструкции дистальных дыхательных путей предлагают измерять среднюю объемную скорость потока воздуха между 25% и 75% ФЖЕЛ, т.е. в середине выдоха ($СОС_{25-75}$). Однако изменения этого параметра весьма вариабельные и зависят от выраженности обструкции центральных бронхов и объема легких [16]. Во 2 группе также выявлено статистически достоверное по сравнению с группой контроля увеличение бронхиального сопротивления на вдохе в 1,9 раза и на выдохе в 2,9 раза, что свидетельствует о генерализованной бронхиальной обструкции.

При сравнении параметров легочной функции между 1 и 2 группами (табл. 2) выявлено статистически значимое снижение практически всех показателей спирометрии у пациентов с дисфункцией МДП: ФЖЕЛ снижена на 17%, $ОФВ_1$ на 24%, $ОФВ_1/ЖЕЛ$ на 16% и $ОФВ_1/ФЖЕЛ$ на 10%. По данным спирометрии косвенно судить о наличии признаков поражения МДП можно на основании изменения параметра ФЖЕЛ, являющегося индикатором наличия «воздушных ловушек» у больных БА [17]. ФЖЕЛ обратно коррелирует с отношением ООЛ к ОЕЛ, следовательно, уменьшение ФЖЕЛ можно рассматривать как показатель наличия «воздушных ловушек» [18]. Скоростные показатели также были статистически значимо снижены ($МОС_{25}$ на 42%, $МОС_{50}$ на 36%, $МОС_{75}$ на 34% и $СОС_{25-75}$ на 35%). Следует отметить, что $СОС_{25-75}$ является спирометрическим параметром, который наиболее часто рассматривают в качестве индикатора обструкции МДП. Однако в работе В.В. Lipworth et al. [14] не было выявлено корреляции между воспалением МДП и $СОС_{25-75}$. В нашем исследовании статистически значимое

снижение $СОС_{25-75}$ на фоне легкой обструкции дает основание согласиться с мнением о данном параметре как об одном из индикаторов обструкции МДП. Результаты исследования Н. Yuan et al. [19] позволили предложить использовать $СОС_{25-75}$ в качестве маркеров раннего поражения МДП у больных кашлевой формой БА с сохраненным $ОФВ_1$. По данным бодиплетизмографии во 2 группе выявлено увеличение бронхиального сопротивления на вдохе в 1,5 раза и на выдохе в 1,9 раз по сравнению с 1 группой.

Характерным для больных БА, имеющих дисфункцию МДП, явилось статистически достоверное снижение ЖЕЛ на 16% и Евд. на 14% в сравнении с пациентами без дисфункции. Данные показатели применяют для определения общей емкости легких ($ОЕЛ=ЖЕЛ+ООЛ$ и $ОЕЛ=Евд.+ФОЕ$). Отсюда следует, что в случае нормальных значений ОЕЛ, по данным спирометрии при снижении ЖЕЛ можно косвенно судить об увеличении ООЛ и формировании «воздушных ловушек», при снижении Евд. – об увеличении ФОЕ и развитии гиперинфляции легких. По данным литературы у больных БА общая емкость легких увеличивается, однако на начальных этапах заболевания этот показатель может находиться в пределах нормальных значений [20, 21]. В нашем исследовании ОЕЛ у всех обследуемых была в норме, но во 2 группе статистически значимо увеличилась по сравнению с группой контроля на 4,3%. Полученные нами результаты соответствуют данным литературы [10]: показатель Евд. позволяет косвенно судить о величине внутригрудного объема или ФОЕ. При гиперинфляции легких Евд. снижается, при этом ОЕЛ остается в пределах нормы или увеличивается.

Заключение

Проведенное исследование показало, что у пациентов с БА легкой степени тяжести частично контролируемого течения поражаются как центральные бронхи, так и МДП. Дисфункция МДП диагностирована в 18% случаев, и она вносит существенный вклад в изменение легочной функции. При легкой БА дисфункция МДП в 55% случаев сопровождается генерализованной бронхиальной обструкцией и ассоциируется с отягощенной наследственностью и ожирением. При снижении ЖЕЛ, ФЖЕЛ и Евд. по данным спирометрии у пациентов с БА легкой степени тяжести можно косвенно судить о формировании «воздушных ловушек» и развитии гиперинфляции легких а, следовательно, дисфункции МДП.

Вопрос о том, является ли дисфункция МДП обязательным признаком астмы или самостоятельным ее фенотипом остается открытым и требует дальнейшего исследования. С практической точки зрения при выборе терапии важно учитывать, что дисфункция МДП может встречаться при легкой БА с частично контролируемым течением. Своевременная диагностика дисфункции МДП у больных легкой БА и применение

экстремелкодисперсных ингаляционных средств, достигающих периферического уровня дыхательных путей, позволит достичь контроля над заболеванием.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Источники финансирования

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

1. Моисеев С.В. Поражение малых дыхательных путей при бронхиальной астме // Клиническая фармакология и терапия. 2012; Т.21, №5. С.5–10.
2. Ненашева Н.М. Роль мелких дыхательных путей при бронхиальной астме // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. 2010. №4. С.27–33.
3. Ненашева Н.М. Современное представление о фенотипах бронхиальной астмы // Фарматека. 2013. №4. С.41–46.
4. Usmani OS., Singh D., Spinola M., Bizzi A., Barnes P.J. The prevalence of small airways disease in adult asthma: a systematic literature review // Respir. Med. 2016. Vol.116. P.19–27. doi: 10.1016/j.rmed.2016.05.006
5. Фассахов Р.С. Большая роль малых дыхательных путей: новые возможности циклесонида в терапии бронхиальной астмы // Медицинский Совет. 2017. №18. С.56–60. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2017-18-56-60>
6. Минеева Е.Е., Антонюк М.В., Юренко А.В., Гвозденко Т.А. Функциональное состояние малых дыхательных путей у пациентов с бронхиальной астмой, ассоциированной с ожирением // Терапевтический архив. 2019. Т.91, №1. С.60–63. <https://doi.org/10.26442/00403660.2019.01.000031>
7. van der Wiel E., ten Hacken N.H., Postma D.S., van den Berge M. Small-airways dysfunction associates with respiratory symptoms and clinical features of asthma: a systematic review // J. Allergy Clin. Immunol. 2013. Vol.131, №3. P.646–657. doi: 10.1016/j.jaci.2012.12.1567
8. Singhanian A., Rupani H., Jayasekera N., Lumb S., Hales P., Gozzard N., Davies D.E., Woelk C.H., Howarth P.H. Altered Epithelial Gene Expression in Peripheral Airways of Severe Asthma // PLoS One 2017. Vol.12, №1. e0168680. doi: 10.1371/journal.pone.0168680
9. Синопальников А.И., Белоцерковская Ю.Г., Романовских А.Г. Возможности оптимизации контроля бронхиальной астмы: малые дыхательные пути и экстремелкодисперсные формы ингаляционных препаратов // Фарматека. 2018. №8. С.49–57. <https://dx.doi.org/10.18565/pharmateca.2018.8.49-57>
10. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (Update 2019). URL: <http://www.ginasthma.com>
11. Савушкина О.И., Черняк А.В. Теоретические и методические аспекты бодиплетизмографии и ее клиническое применение // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2016. Вып.60. С.117–124. <https://doi.org/10.12737/20131>
12. Pellegrino R., Viegi G., Brusasco V., Crapo R.O., Burgos F., Casaburi R., Coates A., van der Grinten C.P.M., Gustafsson P., Hankinson J., Jensen R., Johnson D.C., MacIntyre N., McKay R., Miller M.R., Navajas D., Pedersen O.F., Wanger J. Interpretative strategies for lung function tests // Eur. Respir. J. 2005. Vol.26, №5. P.948–968. <https://doi.org/10.1183/09031936.05.00035205>
13. Айсанов З.Р., Калманова Е.Н. Поражение малых дыхательных путей при бронхиальной астме: новые данные, новая парадигма // Практическая пульмонология. 2019. №1. С.1–8.
14. Lipworth B., Manoharan A., Anderson W. Unlocking the quiet zone: the small airway asthma phenotype // Lancet Respir. Med. 2014. Vol.2, №6. P.497–506. doi: 10.1016/S2213-2600(14)70103-1
15. Wagner E.M., Bleecker E.R., Permutt S., Liu M.C. Direct assessment of small airways reactivity in human subjects // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1998. Vol.157, №2. P.447–452. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.157.2.9611043>
16. Rao D.R., Gaffin J.M., Baxi S.N., Sheehan W.J., Hoffman E.B., Phipatanakul W. The utility of forced expiratory flow between 25% and 75% of vital capacity in predicting childhood asthma morbidity and severity // J. Asthma. 2012. Vol.49, №6. P.586–592. doi: 10.3109/02770903.2012.690481
17. Jarjour N.N., Erzurum S.C., Bleecker E.R., Calhoun W.J., Castro M., Comhair S.A., Chung K.F., Curran-Everett D., Dweik R.A., Fain S.B., Fitzpatrick A.M., Gaston B.M., Israel E., Hastie A., Hoffman E.A., Holguin F., Levy B.D., Meyers D.A., Moore W.C., Peters S.P., Sorkness R.L., Teague W.G., Wenzel S.E., Busse W.W. Severe asthma: lessons learned from the National Heart, Lung, and Blood Institute Severe Asthma Research Program // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2012. Vol.185, №4. P.356–362. <https://doi.org/10.1164/rccm.201107-1317PP>
18. Авдеев С.Н., Айсанов З.Р., Архипов В.В., Белевский А.С., Геппе Н.А., Илькович М.М., Княжеская Н.П., Ненашева Н.М., Овчаренко С.И., Степанян И.Э., Фассахов Р.С., Шмелев Е.И. Согласованные рекомендации по обоснованию выбора терапии бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких с учетом фенотипа

заболевания и роли малых дыхательных путей // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. 2013. №2. С.15–26.

19. Yuan H., Liu X., Li L., Wang G., Liu C., Zeng Y., Mao R., Du C., Chen Z. Clinical and pulmonary function changes in cough variant asthma with small airway disease // *Allergy Asthma Clin. Immunol.* 2019. Vol.15: Article number: 41. doi: 10.1186/s13223-019-0354-1

20. Sorkness R.L., Bleecker E.R., Busse W.W., Calhoun W.J., Castro M., Chung K.F., Curran-Everett D., Erzurum S.C., Gaston B.M., Israel E., Jarjour N.N., Moore W.C., Peters S.P., Teague W.G., Wenzel S.E. Lung function in adults with stable but severe asthma: air trapping and incomplete reversal of obstruction with bronchodilation // *J. Appl. Physiol.* 2008. Vol.104, №2. P.394–403. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00329.2007>

21. Савушкина О.И., Черняк А.В. Клиническое применение метода бодиплетизмографии // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. 2013. №2. С.38–41.

REFERENCES

1. Moiseev S.V. Small airways in bronchial asthma. *Klinicheskaya farmakologiya i terapiya* 2012; 21(5):5–10. (in Russian).

2. Nenasheva N.M. The role of the small airways in bronchial asthma. *Atmosfera. Pul'monologiya i allergologiya* 2010; 4: 27–33 (in Russian).

3. Nenasheva N.M. Current concept of phenotypes of bronchial asthma. *Farmateka* 2013; 4:41–46 (in Russian).

4. Usmani OS., Singh D., Spinola M., Bizzi A., Barnes P.J. The prevalence of small airways disease in adult asthma: a systematic literature review. *Respir. Med.* 2016; 116:19–27. doi: 10.1016/j.rmed.2016.05.006

5. Fassakhov R.S. Significant role of small respiratory tracts: new possibilities of Cyclosonide in therapy of bronchial asthma. *Meditsinskiy sovet = Medical Council* 2017; (18):56–60 (in Russian). <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2017-18-56-60>

6. Mineeva E.E., Antonyuk M.V., Yurenko A.V., Gvozdenko T.A. Functional state of the small airways in patients with bronchial asthma associated with obesity. *Ter. Arkh.* 2019; 91(1):60–63 (in Russian). <https://doi.org/10.26442/00403660.2019.01.000031>

7. van der Wiel E., ten Hacken N.H., Postma D.S., van den Berge M. Small-airways dysfunction associates with respiratory symptoms and clinical features of asthma: a systematic review. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013; 131(3):646–657. doi: 10.1016/j.jaci.2012.12.1567

8. Singhanian A., Rupani H., Jayasekera N., Lumb S., Hales P., Gozzard N., Davies D.E., Woelk C.H., Howarth P.H. Altered Epithelial Gene Expression in Peripheral Airways of Severe Asthma. *PLoS One* 2017; 12(1):e0168680. doi: 10.1371/journal.pone.0168680

9. Sinopalnikov A.I., Belotserkovskaya Yu.G., Romanovsky A.G. Potentials for the optimizing the control of bronchial asthma: small airways and extra-fine-dispersed forms of inhalers. *Farmateka* 2018; 8:49–57 (in Russian). <https://dx.doi.org/10.18565/pharmateca.2018.8.49-57>

10. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (Update 2019). Available at: <http://www.ginasthma.com>

11. Savushkina O.I., Chernyak A.V. Theoretical and methodological aspects of body plethysmography and clinical applications. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2016; (60):117–124 (in Russian). <https://doi.org/10.12737/20131>

12. Pellegrino R., Viegi G., Brusasco V., Crapo R.O., Burgos F., Casaburi R., Coates A., van der Grinten C.P.M., Gustafsson P., Hankinson J., Jensen R., Johnson D.C., MacIntyre N., McKay R., Miller M.R., Navajas D., Pedersen O.F., Wanger J. Interpretative strategies for lung function tests. *Eur. Respir. J.* 2005; 26(5):948–968. <https://doi.org/10.1183/09031936.05.00035205>

13. Aisanov Z.R., Kalmanova E.N. The lesion of small airways in patients with asthma: new data, new paradigm. *Prakticheskaya pul'monologiya* 2019; (1):1–8 (in Russian).

14. Lipworth B., Manoharan A., Anderson W. Unlocking the quiet zone: the small airway asthma phenotype. *Lancet Respir. Med.* 2014; 2(6):497–506. doi: 10.1016/S2213-2600(14)70103-1

15. Wagner E.M., Bleecker E.R., Permutt S., Liu M.C. Direct assessment of small airways reactivity in human subjects. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1998; 157(2):447–452. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.157.2.9611043>

16. Rao D.R., Gaffin J.M., Baxi S.N., Sheehan W.J., Hoffman E.B., Phipatanakul W. The utility of forced expiratory flow between 25% and 75% of vital capacity in predicting childhood asthma morbidity and severity. *J. Asthma* 2012; 49(6):586–592. doi: 10.3109/02770903.2012.690481

17. Jarjour N.N., Erzurum S.C., Bleecker E.R., Calhoun W.J., Castro M., Comhair S.A., Chung K.F., Curran-Everett D., Dweik R.A., Fain S.B., Fitzpatrick A.M., Gaston B.M., Israel E., Hastie A., Hoffman E.A., Holguin F., Levy B.D., Meyers D.A., Moore W.C., Peters S.P., Sorkness R.L., Teague W.G., Wenzel S.E., Busse W.W. Severe asthma: lessons learned from the National Heart, Lung, and Blood Institute Severe Asthma Research Program. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2012; 185(4):356–362. <https://doi.org/10.1164/rccm.201107-1317PP>

18. Avdeev S.N., Aisanov Z.R., Arkhipov V.V., Belevskiy A.S., Geppe N.A., Il'kovich M.M., Knyazheskaya N.P., Nenasheva N.M., Ovcharenko S.I., Stepanyan I.E., Fassahov R.S., Shmelev E.I. Agreed recommendations on the rationale for the choice of therapy for bronchial asthma and chronic obstructive pulmonary disease taking into account the phenotype of the disease and the role of the small airways. *Atmosfera. Pul'monologiya i allergologiya* 2013; (2):15–26 (in Russian).

19. Yuan H., Liu X., Li L., Wang G., Liu C., Zeng Y., Mao R., Du C., Chen Z. Clinical and pulmonary function changes in cough variant asthma with small airway disease. *Allergy Asthma Clin. Immunol.* 2019; 15:41. doi: 10.1186/s13223-019-0354-1

20. Sorkness R.L., Bleecker E.R., Busse W.W., Calhoun W.J., Castro M., Chung K.F., Curran-Everett D., Erzurum S.C., Gaston B.M., Israel E., Jarjour N.N., Moore W.C., Peters S.P., Teague W.G., Wenzel S.E. Lung function in adults with stable but severe asthma: air trapping and incomplete reversal of obstruction with bronchodilation. *J. Appl. Physiol.* 2008; 104(2):394–403. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00329.2007>

21. Savushkina O.I., Chernyak A.V. The clinical application of body plethysmography. *Atmosfera. Pul'monologiya i allergologiya* 2013; (2):38–41 (in Russian).

Информация об авторах:

Author information:

Елена Евгеньевна Минева, канд. мед. наук, научный сотрудник лаборатории восстановительного лечения, врач функциональной диагностики, врач-пульмонолог, Владивостокский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения; <https://orcid.org/0000-0002-4286-2827>; e-mail: elmineeva@yandex.ru

Elena E. Mineeva, MD, PhD (Med.), Staff Scientist of Laboratory of Rehabilitative Treatment, Functional Diagnostics Doctor, Pulmonologist, Vladivostok Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitative Treatment; <https://orcid.org/0000-0002-4286-2827>; e-mail: elmineeva@yandex.ru

Марина Владимировна Антонок, д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией восстановительного лечения, Владивостокский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения; <https://orcid.org/0000-0002-2492-3198>; e-mail: antonyukm@mail.ru

Marina V. Antonyuk, MD, PhD, D.Sc. (Med.), Professor, Head of Laboratory of Rehabilitative Treatment, Vladivostok Branch of Far Eastern Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitative Treatment; <https://orcid.org/0000-0002-2492-3198>; e-mail: antonyukm@mail.ru

Алла Валентиновна Юренко, канд. мед. наук, младший научный сотрудник лаборатории восстановительного лечения, врач-терапевт, Владивостокский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения; <https://orcid.org/0000-0003-0396-6380>; e-mail: yurenko_alla@mail.ru

Alla V. Yurenko, MD, PhD (Med.), Junior Staff Scientist of Laboratory of Rehabilitative Treatment, Therapist, Vladivostok Branch of Far Eastern Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitative Treatment; <https://orcid.org/0000-0003-0396-6380>; e-mail: yurenko_alla@mail.ru

Татьяна Александровна Гвозденко, д-р мед. наук, профессор РАН, главный научный сотрудник лаборатории восстановительного лечения, директор Владивостокского филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательского института медицинской климатологии и восстановительного лечения; <https://orcid.org/0000-0002-6413-9840>; e-mail: vfdnz_nch@mail.ru

Tatyana A. Gvozdenko, MD, PhD, D.Sc. (Med.), Professor of RAS, Main Staff Scientist of Laboratory of Rehabilitative Treatment, Director of the Vladivostok Branch of Far Eastern Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitative Treatment; <https://orcid.org/0000-0002-6413-9840>; e-mail: vfdnz_nch@mail.ru

Анна Анатольевна Уксуменко, аспирант лаборатории восстановительного лечения, Владивостокский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательского института медицинской климатологии и восстановительного лечения; e-mail: anna_uksumenko@mail.ru

Anna A. Uksumenko, Postgraduate Student of Laboratory of Rehabilitative Treatment, Vladivostok Branch of Far Eastern Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitative Treatment; e-mail: anna_uksumenko@mail.ru

Поступила 30.10.2020
Принята к печати 12.11.2020

Received October 30, 2020
Accepted November 12, 2020

УДК 612.2/-26:612.383:616-08-07Coronavirus(048/8)

DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-84-91

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСНОЙ МЕДИЦИНСКОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМЫ ДЫХАНИЯ И КАЧЕСТВО ЖИЗНИ У БОЛЬНЫХ, ПЕРЕНЕСШИХ COVID-19

Е.В.Крюков¹, О.И.Савушкина^{1,2}, М.М.Малашенко¹, А.В.Черняк², И.А.Бобр¹, Р.Р.Исмагилова¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н.Бурденко» Министерства обороны Российской Федерации, 105094, г. Москва, пл. Госпитальная, 3

²Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт пульмонологии» Федерального медико-биологического агентства России, 115682, г. Москва, Ореховый бульвар, 28

РЕЗЮМЕ. Введение. Важным этапом в изучении COVID-19 и его влияния на качество жизни является функциональное исследование системы дыхания в период реконвалесценции. **Цель.** Изучить влияние комплексной медицинской реабилитации (МР) на динамику функциональных показателей системы дыхания, показателей одышки, силы мышц, качества жизни, тревоги и депрессии у больных, перенесших COVID-19. **Материалы и методы.** В исследовании были включены 19 пациентов, перенесших COVID-19 (17 мужчин и 2 женщины, медиана возраста – 45 лет), проходивших лечение в ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н. Бурденко» Минобороны Российской Федерации. Второй этап комплексной МР включал медикаментозное лечение, лечебную физкультуру, физиотерапию. До и после завершения МР были проведены функциональное исследование системы дыхания, оценка одышки по шкале mMRC, оценка силы мышц по шкале MRCweakness, оценка качества жизни по шкале EQ-5D, оценка уровня тревоги и депрессии по шкале HADS. **Результаты.** До начала МР в среднем по группе выраженность одышки была легкой степени, сила мышц была незначительно снижена, качество жизни по 100-балльной шкале составило 80 баллов, тревоги и депрессии выявлено не было. Медианы всех полученных показателей вентиляционной функции легких находились в пределах нормальных значений. Нарушение диффузионной способности легких было выявлено у 14 (74%) пациентов. При повторном обследовании было получено статистически значимое уменьшение степени одышки, увеличение силы мышц, улучшение качества жизни, увеличение ЖЕЛ, ФЖЕЛ, ОФВ₁, DL_{CO}, медианы прироста которых составили, соответственно, 5%долж. или 230 мл, 5%долж или 260 мл, 6%долж. или 210 мл, 6%долж. или 1,75 мл/мин/мм рт. ст. **Заключение.** Полученные данные демонстрируют важность и эффективность проведения комплексных реабилитационных мероприятий после перенесенного COVID-19.

Ключевые слова: функция системы дыхания, диффузионная способность легких, медицинская реабилитация, COVID-19.

INFLUENCE OF COMPLEX MEDICAL REHABILITATION ON PULMONARY FUNCTION AND QUALITY OF LIFE IN PATIENTS AFTER COVID-19

Е.В.Kryukov¹, O.I.Savushkina^{1,2}, M.M.Malashenko¹, A.V.Cherniak², I.A.Bobr¹, R.R.Ismagilova¹

¹Acad. N.N.Burdenko Main Military Clinical Hospital of Russian Federation Ministry of Defence, 3 Gospital'naya Sq., Moscow, 105094, Russian Federation

Контактная информация

Ольга Игоревна Савушкина, канд. биол. наук, зав. отделением исследований функции внешнего дыхания, Центр функционально-диагностических исследований, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н.Бурденко» Министерства обороны Российской Федерации, 105094, Россия, г. Москва, пл. Госпитальная, 3. E-mail: olga-savushkina@yandex.ru

Correspondence should be addressed to

Ol'ga I. Savushkina, MD, PhD (Biol.), Head of Department of Lung Function Testing, Center of Functional Diagnostic Investigations, Acad. N.N.Burdenko Main Military Clinical Hospital of Russian Federation Ministry of Defence, 3 Gospital'naya Sq., Moscow, 105094, Russian Federation. E-mail: olga-savushkina@yandex.ru

Для цитирования:

Крюков Е.В., Савушкина О.И., Малашенко М.М., Черняк А.В., Бобр И.А., Исмагилова Р.Р. Влияние комплексной медицинской реабилитации на функциональные показатели системы дыхания и качество жизни у больных, перенесших COVID-19 // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2020. Вып.78. С. 84–91. DOI: 10.36604/1998-5029-2020-78-84-91

For citation:

Kryukov E.V., Savushkina O.I., Malashenko M.M., Cherniak A.V., Bobr I.A., Ismagilova R.R. Influence of complex medical rehabilitation on pulmonary function and quality of life in patients after COVID-19. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* = *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2020; (78):84–91 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2020-78-84-91

²Pulmonology Scientific Research Institute of Federal Medical and Biological Agency, 28 Orekhovuy Boulevard,
Moscow, 115682, Russian Federation

SUMMARY. An important stage in the study of COVID-19 and its impact on quality of life is the study of lung function during the period of convalescence. **Aim.** To assess the influence of complex medical rehabilitation (MR) on pulmonary function, dyspnea, muscle weakness, quality of life, anxiety and depression in patients after COVID-19. **Materials and methods.** The study included 19 patients after COVID-19 (17 men and 2 woman, median age – 45 years), who were treated at the Main Military Clinical Hospital of the Ministry of Defense named after N.N.Burdenko. The second stage of complex MR included medical and physical therapy, and physiotherapy. Before and after the MR pulmonary function tests were performed, also the scores of mMRC, MRSweakness, HADS scales, the scores of EQ-5D Questionnaire were assessed. **Results.** Before the start of MR, on average, the severity of dyspnea in the group was mild, muscle strength was slightly reduced, the quality of life score was 80 points, anxiety and depression were not detected. The medians of all pulmonary function parameters were within normal values unless anomaly of the lung diffusion capacity in 14 (74%) cases. Repeated examination showed a statistically significant reduction in the degree of dyspnea, increased muscle strength, improved quality of life, increased VC, FVC, FEV₁, DL_{CO}, with a median increase of 5% pred. or 230 mL, 5% pred. (260 mL), 6% pred. (210 mL) and 6% pred. (1,75 mL/min/mmHg), respectively. **Conclusion.** Our study demonstrated the importance and effectiveness of complex rehabilitation after COVID-19.

Key words: pulmonary function, lung diffusion capacity, medical rehabilitation, COVID-19.

В начале 21 столетия мир неоднократно переживал вспышки эпидемий, таких как SARS-CoV (англ. Severe Acute Respiratory Syndrome CoronaVirus), MERS-CoV (англ. Middle East Respiratory Syndrome CoronaVirus), которые стали причиной развития эпидемии тяжелой острой респираторной инфекции, проявляющейся атипичной пневмонией. В конце 2019 г. в Китайской Народной Республике произошла вспышка новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2, одним из клинических проявлений которой является двустороннее интерстициальное повреждение легких, сопровождающееся патологией сосудов, прежде всего микроциркуляторного русла в виде тромбоваскулита. Заболевание, обусловленное SARS-CoV-2, получило официальное название COVID-19 (аббревиатура от англ. COronaVIrus Disease 2019) [1].

Важным этапом в изучении COVID-19, а также его влияния на качество жизни является функциональное исследование системы дыхания в период реконвалесценции. Так, по данным X.Mo et al. [2] и Y. Huang et al. [3] нарушение диффузионной способности легких (ДСЛ) в ранний период выздоровления было выявлено в 47,2 и 52,6% случаев, соответственно, тогда как вентиляционные нарушения – в 29 и 56% случаев, соответственно. В наших собственных исследованиях, в которые были включены пациенты без хронической бронхолегочной патологии, было показано, что самым частым респираторным нарушением (более чем у половины пациентов) в ранний период выздоровления после COVID-19 является нарушение ДСЛ [4, 5]. J.Frija-Masson et al. [6] выявили респираторные нарушения у 54% пациентов на 30-й день после появления первых симптомов COVID-19.

Наиболее благоприятными для восстановления респираторной функции считаются первые два месяца после перенесенной новой коронавирусной инфекции, так называемый период терапевтического окна [1]. Целью реабилитации таких пациентов является восстановление функциональных нарушений системы дыха-

ния, транспорта и потребления кислорода тканями, толерантности к физическим нагрузкам, психоэмоциональной стабильности, активности и участия в повседневной жизни [1].

В отечественной и зарубежной литературе активно обсуждаются вопросы легочной реабилитации после COVID-19. Так, согласно «Временным методическим рекомендациям по медицинской реабилитации пациентов с новой коронавирусной инфекцией COVID-19» Союза реабилитологов России, медицинская реабилитация (МР) включает 3 этапа [7]. Первый этап – оказание медицинской помощи по МР в отделениях интенсивной терапии и инфекционных-терапевтических отделениях, организованных для пациентов с новой коронавирусной инфекцией. Второй этап проводится в отделениях МР пациентов с соматическими заболеваниями, третий – в амбулаторно-поликлинических и санаторно-курортных медицинских учреждениях [7].

При планировании индивидуальной программы МР пациентам, перенесшим COVID-19, должны быть проведены рекомендуемые инструментальные и лабораторные исследования, в том числе, на предмет вентиляционно-газообменных нарушений [7].

В соответствии с рекомендациями Союза реабилитологов России на 2 этапе МР необходимо применять такие методы, как лечебная физкультура, физиотерапия, миофасциальный релиз дыхательных мышц и коррекция мышечных триггеров дыхательной мускулатуры [7]. Кроме того, Н.Н. Мещеряковой и соавт. [8] были предложены инспираторный тренинг, вибрационно-перкусионная терапия, тренировка верхней и нижней групп мышц.

Цель настоящего исследования – изучить влияние комплексной МР на динамику функциональных показателей системы дыхания, а также показателей одышки, силы мышц, качества жизни, тревоги и депрессии у больных, перенесших COVID-19.

Материалы и методы исследования

В исследование были включены 19 пациентов, перенесших COVID-19 (17 мужчин и 2 женщины, медиана возраста составила 45 лет), проходивших лечение в ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н.Бурденко» Минобороны Российской Федерации (Госпиталь).

Все больные прошли курс лечения в Ковид-центре Госпиталя. У всех пациентов было выявлено двустороннее поражение легких, обусловленное SARS-CoV-2. Сопутствующие заболевания имели 8 (42%) пациентов, в том числе 1 – гипертоническую болезнь, 2 – гипертоническую болезнь и сахарный диабет, 1 – бронхиальную астму, 1 – саркоидоз органов дыхания II стадии, 1 – хронический гломерулонефрит, 1 – псориаз, 1 – варикозное расширение вен.

В острой фазе заболевания у обследованных пациентов на компьютерных томограммах высокого разрешения (КТ) были выявлены характерные для SARS-CoV-2 интерстициальные изменения легочной ткани, площадь которых была 25% и менее (КТ1) – в 4 (21%) случаях, 26-50% (КТ2) – в 8 (42%), 51-75% (КТ3) – в 5 (26%), более 75% (КТ4) – в 2 (11%) случаях. На момент начала реабилитационных мероприятий по данным КТ у пациентов были выявлены остаточные изменения легочной ткани после COVID-19 различной степени выраженности, за исключением 1 случая с саркоидозом органов дыхания II стадии, когда была выявлена мелкоочаговая диссеминация, вероятнее всего, обусловленная основным хроническим заболеванием легких.

После выписки из Ковид-центра Госпиталя на втором этапе МР в зависимости от показаний пациенты продолжали получать медикаментозную терапию в соответствии с рекомендациями Министерства Здравоохранения Российской Федерации [1]. Кроме того, для каждого пациента в зависимости от результатов инструментальных и лабораторных исследований, наличия сопутствующих заболеваний, результатов функционального исследования системы дыхания, а также оценки одышки по модифицированной шкале Medical Research Council Scale (mMRC), оценки силы мышц по шкале оценки двигательного дефицита MRC Scale Weakness (MRCw) были подобраны индивидуальные программы МР с учетом оценки безопасности планируемых реабилитационных мероприятий.

Помимо этого, всем пациентам была проведена оценка качества жизни по шкале European Quality of Life 5-Dimensions Health Questionnaire (EQ-5D), оценка уровня тревоги и депрессии по госпитальной шкале Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS).

В соответствии с рекомендациями Союза реабилитологов России МР включала лечебную физкультуру, физиотерапевтические процедуры, такие как инфракрасная лазерная терапия, низкочастотная магнитная терапия, электронейростимуляция, ультразвуковая те-

рапия [7], а также импульсная магнитная терапия и галотерапия по индивидуальному режиму. В среднем каждый пациент за период МР получил 22 различные физиопроцедуры.

После завершения второго этапа МР всем пациентам была проведена повторная оценка степени одышки, силы мышц, качества жизни, тревоги и депрессии по соответствующим шкалам, а также функциональное исследование легких. Медиана первого исследования составила 51 день от начала заболевания, медиана интервала повторного исследования – 7 дней (интерквартильный размах 6-12 дней).

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Функциональные исследования системы дыхания включали форсированную спирометрию, бодиплетизмографию, измерение ДСЛ и были выполнены на оборудовании MasterScreen (Viasys Healthcare/Erich Jaeger, Германия) с учетом российских и международных требований их выполнения [9–11]. ДСЛ оценивали по моноскиду углерода (СО) методом однократного вдоха с задержкой дыхания с использованием RGA анализатора быстрого реагирования [12].

Все исследования были выполнены в соответствии с рекомендациями Российского респираторного общества по проведению функциональных исследований системы дыхания в период пандемии COVID-19 [13].

Были проанализированы следующие параметры:

- спирометрии: форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха за первую секунду ($ОФV_1$), $ОФV_1/ФЖЕЛ$, объемная скорость на кривой поток-объем форсированного выдоха между 25 и 75% выдохнутой ФЖЕЛ ($СОС_{25-75}$);

- бодиплетизмографии: спокойная жизненная емкость легких (ЖЕЛ), общая ёмкость легких (ОЕЛ), остаточный объем легких (ООЛ) и его отношение к ОЕЛ (ООЛ/ОЕЛ), внутригрудной объем газа (ВГО), емкость вдоха (Евд), общее бронхиальное сопротивление ($Raw_{обм}$);

- ДСЛ: трансфер-фактор СО (DL_{CO}) и его отношение к альвеолярному объему (VA) – DL_{CO}/VA .

При анализе показателей легочных функциональных тестов должны значения показателей рассчитывали по формулам Европейского сообщества стали и угля (ECSC, 1993) [14] с учетом возраста, пола, и роста пациента. Результаты выражали в процентах от должного значения (% долж.): фактическое значение/должное значение $\times 100\%$. Нижнюю границу нормы вычисляли по формуле: должное значение – $1,645 \times SD$, где SD – стандартное отклонение от среднего.

Статистическая обработка данных проводилась с применением программы Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Для оценки нормальности распределения переменных был использован критерий Шапиро–Уилка. Количественные переменные, распределение которых отличалось от нормального, представлены, в виде значений медиан (Me) и интерквартильного размаха

(Q1–Q3), номинативные переменные – количеством пациентов (n). Сравнение показателей 2-х групп проводили с применением непараметрического Т-критерия Вилкоксона для зависимых выборок. Корреляционный анализ выполнен с использованием ранговой корреляции Спирмена. Различия считались статистически

значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты описательной статистики изученных показателей до и после окончания МР представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Характеристика пациентов и динамика показателей степени одышки, силы мышц, качества жизни, тревоги и депрессии до и после медицинской реабилитации

Показатель	Me (Q1–Q3)		p
	До лечения	После лечения	
Пол, мужчины/женщины, n (%)	17 (89%)/2 (11%)		-
Возраст, годы	45 (42–51)		
Рост, см	174 (169–182)		
Индекс массы тела, кг/м ²	29 (26–33)		
Одышка по шкале mMRC	1 (1–2)	0 (0–1)	0,003
Сила мышц по шкале MRCw	4 (4–4)	4 (4–5)	0,018
Качество жизни по шкале EQ-5D	80 (60–85)	90 (85–95)	<0,001
Тревога по шкале HADS	3 (2–3)	3 (2–3)	NS
Депрессия по шкале HADS	2 (1–5)	2 (2–5)	NS

Примечание: здесь и в следующей таблице NS – не выявлено статистических различий.

Таблица 2

Показатели комплексного функционального исследования внешнего дыхания до и после медицинской реабилитации

Показатель	Me (Q1–Q3)		p
	До лечения	После лечения	
ЖЕЛ, %долж. ЖЕЛ <80%долж., n(%)	93 (78–109) 5 (26%)	97 (82–105) 4 (21%)	0,047
ФЖЕЛ, %долж. ФЖЕЛ <80%долж., n(%)	93 (83,6–109) 4 (21%)	101 (86–110) 3 (16%)	0,008
ОФВ ₁ , %долж. ОФВ ₁ <80%долж., n(%)	95 (78–105) 5 (26%)	99 (87–109) 2 (10,5%)	0,003
ОФВ ₁ /ЖЕЛ, % ОФВ ₁ /ЖЕЛ <0,7, n(%)	81 (76–83) 3 (16%)	83 (78–85) 1 (5%)	0,03
ОФВ ₁ /ФЖЕЛ, %	82 (79–85)	84 (81–85)	NS
СОС ₂₅₋₇₅ , %долж.	95 (73–101)	101 (84–119)	0,01
ОЕЛ, %долж. ОЕЛ < 80%долж., n(%)	94 (78–108) 5 (26%)	93 (83–99) 5 (26%)	NS
ВГО, %долж.	88 (72–103)	83 (76–100)	NS
Евд, %долж.	95 (69–121)	102 (83–114)	NS
ООЛ, %долж.	99 (78–108)	88 (78–101)	NS
ООЛ/ОЕЛ, %долж.	97 (89–104)	89 (80–98)	0,03
Raw _{общ} , кПа·сек/л	0,24 (0,19–0,31)	0,24 (0,21–0,29)	NS
DL _{CO} , %долж. DL _{CO} <80%долж., n(%)	71 (59–95) 14 (74%)	79 (56–92) 10 (53%)	0,01
DL _{CO} /VA, %долж.	90 (77–104)	94 (81–100)	NS

Анализ данных таблицы 1 показал, что обследованные пациенты имели избыточную массу тела: медиана индекса массы тела (ИМТ) составила 29 кг/м².

Соотношение некурящие/бросившие курить на момент обследования составляло 11(58%)/8(42%), соответственно. Обращает на себя внимание тот факт, что куривших среди обследованных пациентов не было. Низкая распространенность табакокурения среди заболевших COVID-19 была отмечена в ряде зарубежных работ [15, 16], а также в наших собственных исследованиях [4, 5]. Подробное обсуждение столь неоднозначной эпидемиологической ситуации было опубликовано в статье А.М.Щикота и соавт. [17].

До начала МР в среднем по группе выраженность одышки была легкой степени, сила мышц была незначительно снижена, качество жизни по 100-балльной шкале составило 80 баллов, тревоги и депрессии у обследованных нами пациентов выявлено не было. Отсутствие тревоги и депрессии отражает исключительно особенности нашей выборки, тогда как известно, что пациенты после перенесенного COVID-19 имеют отклонения по шкале HADS [7].

Медианы всех полученных показателей вентиляционной функции легких находились в пределах нормальных значений. Однако у 5 (26%) пациентов был выявлен рестриктивный тип вентиляционных нарушений (ОЕЛ менее 80%долж. при сохранном отношении ОФВ₁/ЖЕЛ), у 3 (16%) – по обструктивному типу (ОФВ₁/ЖЕЛ <0,7, ОЕЛ более 80%долж.).

Нарушение ДСЛ было выявлено у 14 (74%) пациентов.

В результате проведенной индивидуальной программы МР было получено статистически значимое уменьшение степени одышки, увеличение силы мышц, улучшение качества жизни, увеличение таких функциональных показателей как ЖЕЛ, ФЖЕЛ, ОФВ₁, DL_{CO}, медианы прироста которых составили 5%долж. или 230 мл, 5%долж. или 260 мл, 6%долж. или 210 мл, 6%долж. или 1,75 мл/мин/мм рт. ст. соответственно, а также увеличение ОФВ₁/ЖЕЛ, СОС₂₅₋₇₅ и снижение от-

ношения ООЛ/ОЕЛ. Обращает на себя внимание, что статистически значимого изменения статических легочных объемов (ОЕЛ, ВГО, ООЛ) и показателей бронхиального сопротивления, которые оценивали с помощью бодиплетизмографии, не получено, что позволяет считать достаточным выполнение спирометрии и диффузионного теста в краткосрочной динамике таким пациентам.

При проведении корреляционного анализа изучаемых показателей обратили на себя внимание следующие зависимости: умеренная обратная корреляционная связь между ИМТ и увеличением силы мышц ($r=-0,5$; $p=0,03$), а также между исходным показателем бронхиального сопротивления Raw_{общ} и улучшением качества жизни ($r=-0,46$; $p=0,04$) в результате индивидуальной программы МР.

Заключение

Таким образом, полученные данные наглядно демонстрируют важность проведения комплексных реабилитационных мероприятий после перенесенного COVID-19: было выявлено статистически значимое увеличение показателей вентиляции, газообмена, качества жизни, мышечного тонуса, а также уменьшение одышки. Оценка функционального состояния системы дыхания, а также общего физического и психоэмоционального состояний позволяют целенаправленно определять составляющие индивидуальной программы МР пациентов после COVID-19.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Источники финансирования

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

1. Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» версия 9 от 26.10.2020. URL: https://minzdrav.gov.ru/ministry/med_covid19.
2. Mo X., Jian W., Su Z., Chen M., Peng H., Peng P., Lei Ch., Chen R., Zhong N., Li S. Abnormal pulmonary function in COVID-19 patients at time of hospital discharge // Eur. Respir. J. 2020. Vol.55, №6. Article number: 2001217. doi.10.1183/13993003.01217-2020
3. Huang Y., Tan C., Wu J., Chen M., Wang Z., Luo L., Zhou X., Liu X., Huang X., Yuan S., Chen Ch., Gao F., Huang J., Shan H., Liu J. Impact of coronavirus disease 2019 on pulmonary function in early convalescence phase // Respir. Res. 2020. Vol.21, №1. Article number: 163. doi:10.1186/s12931-020-01429-6
4. Зайцев А.А., Савушкина О.И., Черняк А.В., Кулагина И.Ц., Крюков Е.В. Клинико-функциональная характеристика пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию COVID-19 // Практическая пульмонология. 2020. №1. С.78–81.
5. Савушкина О.И., Черняк А.В., Крюков Е.В., Кулагина И.Ц., Самсонова М.В., Калманова Е.Н., Зыков К.А. Функциональные нарушения системы дыхания в период раннего выздоровления после COVID-19 // Медицинский алфавит. 2020. №25. С.7–12. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2020-25-7-12>
6. Frija-Masson J., Debray M.-P., Gilbert M., Lescure F.-X., Travert F., Borie R., Khalil F., Crestani B., d'Ortho M.-P.,

Bancal C. Functional characteristics of patients with SARS-CoV-2 pneumonia at 30 days post-infection // *Eur. Respir. J.* 2020. Vol.56, №2. Article number: 2001754. doi: 10.1183/13993003.01754-2020

7. Временные методические рекомендации «Медицинская реабилитация при новой коронавирусной инфекции COVID-19» версия 2 от 31.07.2020. URL: https://www.edu.rosminzdrav.ru/fileadmin/user_upload/specialists/COVID-19/dop-materials/VMR_medreabilitacija_COVID_versija2.pdf.

8. Мещерякова Н.Н., Белевский А.С., Кулешов А.В. Легочная реабилитация пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию COVID-19 (клинические примеры) // *Пульмонология.* 2020. Т.30, №5. С.715–722. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2020-30-5-715-722>

9. Чучалин А.Г., Айсанов З.Р., Чикина С.Ю., Черняк А.В., Калманова Е.Н. Федеральные клинические рекомендации Российского респираторного общества по использованию метода спирометрии // *Пульмонология.* 2014. №6. С.11–23. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2014-0-6-11-24>

10. Graham B.L., Steenbruggen I., Miller M.R., Burgos F., Casaburi R., Coates A., Crapo R., Enright P., van der Grinten C.P., Gustafsson P., Jensen R., Johnson D.C., MacIntyre N., McKay R., Navajas D., Pedersen O.F., Pellegrino R., Viegi G., Wanger J.; ATS/ERS Task Force. Standardization of Spirometry 2019 Update. An Official American Thoracic Society and European Respiratory Society Technical Statement // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2019. Vol.200, №8. P. P.70–88. doi: 10.1164/rccm.201908-1590ST

11. Wanger J., Clausen J.L., Coates A., Pedersen O.F., Brusasco V., Burgos F., Casaburi R., Crapo R., Enright P., van der Grinten C.P., Gustafsson P., Hankinson J., Jensen R., Johnson D., Macintyre N., McKay R., Miller M.R., Navajas D., Pellegrino R., Viegi G. Standardisation of the measurement of lung volumes // *Eur. Respir. J.* 2005. Vol.26, №3. P.511–522. doi: 10.1183/09031936.05.00035005

12. Graham B.L., Brusasco V., Burgos F., Cooper B.G., Jensen R., Kendrick A., MacIntyre N.R., Thompson B.R., Wanger J. 2017 ERS/ATS Standards for single-breath carbon monoxide uptake in the lung // *Eur. Respir. J.* 2017. Vol.49, №1. Article number: 1600016. doi: 10.1183/13993003.00016-2016

13. Рекомендации Российского респираторного общества по проведению функциональных исследований системы дыхания в период пандемии COVID-19 Версия 1.1. от 19.05.2020. URL: https://spulmo.ru/upload/rekomendacii_rro_fvd_COVID_19_rev1_1_01062020.pdf

14. Quanjer P.H., Tammeling G.J., Cotes J.E., Pedersen O.F., Peslin R., Yernault J.C. Lung volumes and forced ventilatory flows. Report Working Party Standardization of Lung Function Tests, European Community for Steel and Coal. Official Statement of the European Respiratory Society // *Eur. Respir. J.* 1993. Vol.6 (Suppl.16). P.5–40.

15. Guan W., Ni Z., Hu Yu, Liang W., Ou C., He J., Liu L., Shan H., Lei C., Hui D.S.C., Du B., Li L., Zeng G., Yuen K.-Y., Chen R., Tang C., Wang T., Chen P., Xiang J., Li S., Wang Jin-lin, Liang Z., Peng Y., Wei L., Liu Y., Hu Y.-h., Peng P., Wang J.-m., Liu J., Chen Z., Li G., Zheng Z., Qiu S., Luo J., Ye C., Zhu S., Zhong N. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China // *N. Engl. J. Med.* 2020. Vol.382, №18. P.1708–1720. doi: 10.1056/NEJMoa2002032

16. Rossato M., Russo L., Mazzocut S., Vincenzo A. Di, Fioretto P., Vettor R. Current smoking is not associated with COVID-19 // *Eur. Respir. J.* 2020. Vol.55, №6. Article number: 2001290. doi: 10.1183/13993003.01290-2020

17. Щикота А.М., Погонченкова И.В., Турова Е.А., Рассулова М.А., Гуменюк С.А. Хроническая обструктивная болезнь легких и COVID-19: актуальные вопросы // *Пульмонология.* 2020. Т.30, №5. С.599–608. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2020-30-5-599-608>

REFERENCES

1. Interim Guidelines "Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19)" version 9 (October 26, 2020) (in Russian). Available at: https://minzdrav.gov.ru/ministry/med_covid19

2. Mo X., Jian W., Su Z., Chen M., Peng H., Peng P., Lei Ch., Chen R., Zhong N., Li S. Abnormal pulmonary function in COVID-19 patients at time of hospital discharge. *Eur. Respir. J.* 2020; 55(6):2001217. doi:10.1183/13993003.01217-2020

3. Huang Y., Tan C., Wu J., Chen M., Wang Z., Luo L., Zhou X., Liu X., Huang X., Yuan S., Chen Ch., Gao F., Huang J., Shan H., Liu J. Impact of coronavirus disease 2019 on pulmonary function in early convalescence phase. *Respir. Res.* 2020; 21(1):163. doi:10.1186/s12931-020-01429-6

4. Zaitsev A.A., Savushkina O.I., Chernyak A.V., Kulagina I.C., Kryukov E.V. Clinical and Functional Characteristics of Patients Who Recovered from the Novel Coronavirus Infection (COVID-19). *Prakticheskaya pul'monologiya* 2020 (1):78–81 (in Russian).

5. Savushkina O.I., Cherniak A.V., Kryukov E.V., Kulagina I.T., Samsonova M.V., Kalmanova E.N., Zykov K.A. Pulmonary function after COVID-19 in early convalescence phase. *Medical alphabet* 2020; (25):7–12 (in Russian). <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2020-25-7-12>

6. Frija-Masson J., Debray M.-P., Gilbert M., Lescure F.-X., Travert F., Borie R., Khalil F., Crestani B., d'Ortho M.-P., Bancal C. Functional characteristics of patients with SARS-CoV-2 pneumonia at 30 days post-infection. *Eur. Respir. J.* 2020; 56(2):2001754. doi: 10.1183/13993003.01754-2020

7. Interim Guidelines "Medical rehabilitation in the new COVID-coronavirus infection 19" Version 2 (July 31, 2020) (in Russian). Available at: https://www.edu.rosminzdrav.ru/fileadmin/user_upload/specialists/COVID-19/dop-materials/VMR_medreabilitacija_COVID_versija2.pdf.
8. Meshcheryakova N.N., Belevskiy A.S., Kuleshov A.V. Pulmonary rehabilitation of patients with coronavirus infection COVID-19, clinical examples. *Pulmonologiya* 2020; 30(5):715–722 (in Russian). <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2020-30-5-715-722>
9. Chuchalin A.G., Aysanov Z.R., Chikina S.Yu., Chernyak A.V., Kalmanova E.N. Federal guidelines of Russian Respiratory Society on spirometry. *Pulmonologiya* 2014; (6):11–23 (in Russian). <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2014-0-6-11-24>
10. Graham B.L., Steenbruggen I., Miller M.R., Burgos F., Casaburi R., Coates A., Crapo R., Enright P., van der Grinten C.P., Gustafsson P., Jensen R., Johnson D.C., MacIntyre N., McKay R., Navajas D., Pedersen O.F., Pellegrino R., Viegi G., Wanger J.; ATS/ERS Task Force. Standardization of Spirometry 2019 Update. An Official American Thoracic Society and European Respiratory Society Technical Statement. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2019; 200(8):e70–e88. doi: 10.1164/rccm.201908-1590ST
11. Wanger J., Clausen J.L., Coates A., Pedersen O.F., Brusasco V., Burgos F., Casaburi R., Crapo R., Enright P., van der Grinten C.P., Gustafsson P., Hankinson J., Jensen R., Johnson D., MacIntyre N., McKay R., Miller M.R., Navajas D., Pellegrino R., Viegi G. Standardisation of the measurement of lung volumes. *Eur. Respir. J.* 2005; 26(3):511–522. doi: 10.1183/09031936.05.00035005
12. Graham B.L., Brusasco V., Burgos F., Cooper B.G., Jensen R., Kendrick A., MacIntyre N.R., Thompson B.R., Wanger J. 2017 ERS/ATS Standards for single-breath carbon monoxide uptake in the lung. *Eur. Respir. J.* 2017; 49(1):1600016. doi: 10.1183/13993003.00016-2016
13. Russian Respiratory Society recommendations for the respiratory system functional studies during a pandemic COVID-19 Version 1.1. (May 19, 2020) (in Russian). Available at: https://spulmo.ru/upload/rekomendacii_rro_fvd_COVID_19_rev1_1_01062020.pdf
14. Quanjer P.H., Tammeling G.J., Cotes J.E., Pedersen O.F., Peslin R., Yernault J.C. Lung volumes and forced ventilatory flows. Report Working Party Standardization of Lung Function Tests, European Community for Steel and Coal. Official Statement of the European Respiratory Society. *Eur. Respir. J.* 1993; 6(Suppl.16):5–40.
15. Guan W., Ni Z., Hu Yu, Liang W., Ou C., He J., Liu L., Shan H., Lei C., Hui D.S.C., Du B., Li L., Zeng G., Yuen K.-Y., Chen R., Tang C., Wang T., Chen P., Xiang J., Li S., Wang Jin-lin, Liang Z., Peng Y., Wei L., Liu Y., Hu Y.-h., Peng P., Wang J.-m., Liu J., Chen Z., Li G., Zheng Z., Qiu S., Luo J., Ye C., Zhu S., Zhong N. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N. Engl. J. Med.* 2020; 382 (18):1708–1720. doi: 10.1056/NEJMoa2002032
16. Rossato M., Russo L., Mazzocut S., Vincenzo A. Di, Fioretto P., Vettor R. Current smoking is not associated with COVID-19. *Eur. Respir. J.* 2020; 55(6):2001290. doi: 10.1183/13993003.01290-2020
17. Shchikota A.M., Pogonchenkova I.V., Turova E.A., Rassulova M.A., Gumenyuk S.A. Chronic obstructive pulmonary disease and COVID-19: topical issues. *Pulmonologiya* 2020; 30(5):599–608 (in Russian). <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2020-30-5-599-608>

Информация об авторах:

Евгений Владимирович Крюков, д-р мед. наук, профессор, член-корреспондент РАН, начальник Федерального государственного бюджетного учреждения «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н.Бурденко» Министерства обороны Российской Федерации; e-mail: evgeniy.md@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8396-1936>

Ольга Игоревна Савушкина, канд. биол. наук, зав. отделением исследований функции внешнего дыхания, Центр функционально-диагностических исследований, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н.Бурденко» Министерства обороны Российской Федерации; старший научный сотрудник лаборатории функциональных и ультразвуковых методов исследования, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт пульмонологии» Федерального медико-биологического агентства России; e-mail: olga-savushkina@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7486-4990>

Author information:

Evgeniy V. Kryukov, MD, PhD, DSc, Professor, Corresponding Member of Russian Academy of Sciences, Commander of Acad. N.N.Burdenko Central Clinical Military Hospital; e-mail: evgeniy.md@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8396-1936>

Ol'ga I. Savushkina, MD, PhD (Biol.), Head of Department of Lung Function Testing, Center of Functional Diagnostic Investigations, Acad. N.N.Burdenko Main Military Clinical Hospital of Russian Federation Ministry of Defence; Senior Staff Scientist of the Laboratory of Functional and Ultrasonic Research Methods, Pulmonology Scientific Research Institute of Federal Medical and Biological Agency; e-mail: olga-savushkina@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7486-4990>

Мария Михайловна Малашенко, канд. мед. наук, зав. отделением физиотерапии, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н.Бурденко» Министерства обороны Российской Федерации; e-mail: mar-malashenko@yandex.ru

Maria M. Malashenko, MD, PhD (Med.), Head of Department of Physiotherapy, Acad. N.N.Burdenko Main Military Clinical Hospital of Russian Federation Ministry of Defence; e-mail: mar-malashenko@yandex.ru

Александр Владимирович Черняк, канд. мед. наук, зав. лабораторией функциональных и ультразвуковых методов исследования, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт пульмонологии» Федерального медико-биологического агентства России; e-mail: achi2000@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2001-5504>

Alexander V. Cherniak, MD, PhD (Med.), Head of Laboratory of Functional and Ultrasonic Research Methods, Pulmonology Scientific Research Institute of Federal Medical and Biological Agency; e-mail: achi2000@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2001-5504>

Ирина Анатольевна Бобр, зав. кабинетом отделения физиотерапии, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н.Бурденко» Министерства обороны Российской Федерации; e-mail: irina.bobr@bk.ru

Irina A. Bobr, MD, Head of the Office of Physiotherapy, Acad. N.N.Burdenko Main Military Clinical Hospital of Russian Federation Ministry of Defence; e-mail: irina.bobr@bk.ru

Резеда Рифгатовна Исмагилова, зав. кабинетом отделения физиотерапии, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н.Бурденко» Министерства обороны Российской Федерации; e-mail: rezeda.ismagilowa.1972@mail.ru

Reseda P. Ismagilova, MD, Head of the Office of Physiotherapy, Acad. N.N.Burdenko Main Military Clinical Hospital of Russian Federation Ministry of Defence; e-mail: irina.bobr@bk.ru

*Поступила 26.11.2020
Принята к печати 30.11.2020*

*Received November 26, 2020
Accepted November 30, 2020*

УДК (612.216/-217+612.284.2)616-008.6:616-073.97

DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-92-98

СОСТОЯНИЕ ДЫХАТЕЛЬНЫХ МЫШЦ ПРИ ОБСТРУКТИВНЫХ НАРУШЕНИЯХ ДЫХАНИЯ ВО СНЕ ПО ДАННЫМ ЭЛЕКТРОМИОГРАФИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

А.И.Мирошниченко, А.К.Кунарбаева, К.М.Иванов, И.В.Мирошниченко

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской
Федерации, 460000, г. Оренбург, ул. Советская, 6

РЕЗЮМЕ. Цель. Изучить функциональное состояние дыхательных мышц у пациентов с обструктивными нарушениями дыхания во сне (ОНДС) различной степени тяжести на основании изменений их электрической активности при использовании ступенчато возрастающей респираторной нагрузки. **Материалы и методы.** По результатам кардиореспираторного мониторинга обследуемые были разделены на 4 группы. В 1 группу вошли 16 пациентов без ОНДС, во 2 группу – 16 пациентов с ОНДС лёгкой степени, в 3 группу – 8 пациентов с ОНДС средней степени, в 4 группу – 8 пациентов с ОНДС тяжёлой степени. Оценка электрической активности инспираторных и экспираторных мышц проводилась с помощью электромиографии (ЭМГ) при выполнении проб со ступенчато возрастающей инспираторной и экспираторной нагрузкой. **Результаты.** При проведении инспираторной пробы наблюдалось уменьшение частоты ЭМГ, свидетельствующее о развитии утомления дыхательных мышц, с одновременным увеличением амплитуды ЭМГ, обусловленным вовлечением дополнительных мотонейронов в мышечное сокращение. Во всех случаях степень увеличения амплитуды ЭМГ преобладала над степенью снижения частоты ЭМГ. У пациентов 3 и 4 групп не было выявлено признаков развития утомления диафрагмы. При анализе результатов экспираторной пробы в 1 группе степень увеличения амплитуды ЭМГ преобладала над степенью уменьшения частоты ЭМГ. В группах пациентов с ОНДС наблюдалось преобладание степени снижения частоты ЭМГ над степенью увеличения амплитуды ЭМГ, что свидетельствует о развитии нервно-мышечного утомления экспираторных мышц. **Заключение.** Изменения функционального состояния дыхательных мышц при ОНДС связаны с ее тяжестью и характеризуются различной динамикой электрической активности инспираторных и экспираторных мышц в ответ на функциональную нагрузочную вентиляционную пробу.

Ключевые слова: обструктивные нарушения дыхания во сне, инспираторные мышцы, экспираторные мышцы, электромиография.

THE CONDITION OF THE RESPIRATORY MUSCLES IN OBSTRUCTIVE SLEEP DISORDERED BREATHING ACCORDING TO ELECTROMYOGRAPHIC DATA

A.I.Miroshnichenko, A.K.Kunarbava, K.M.Ivanov, I.V.Miroshnichenko

Orenburg State Medical University, 6 Sovetskaya Str., Orenburg, 460000, Russian Federation

SUMMARY. Aim. To study functional state of respiratory muscles in patients with obstructive sleep-disordered breathing (oSDB) of varying severity based on changes in electrical activity when using a stepwise-increasing respiratory load. **Materials and methods.** According to results of cardiorespiratory monitoring, the examined patients were divided into 4 groups. Group 1 included 16 patients without oSDB, group 2 – 16 patients with mild oSDB, group 3 – 8 patients with moderate oSDB, group 4 – 8 patients with severe oSDB. The assessment of electrical activity of inspiratory muscles and

Контактная информация

Анастасия Игоревна Мирошниченко, аспирант кафедры пропедевтики внутренних болезней, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 460000, Россия, г. Оренбург, ул. Советская, 6. E-mail: miroshni4enko.nast@yandex.ru

Correspondence should be addressed to

Anastasia I. Miroshnichenko, MD, Postgraduate Student of the Department of Propaedeutic of Internal Medicine, Orenburg State Medical University, 6 Sovetskaya Str., Orenburg, 460000, Russian Federation. E-mail: miroshni4enko.nast@yandex.ru

Для цитирования:

Мирошниченко А.И., Кунарбаева А.К., Иванов К.М., Мирошниченко И.В. Состояние дыхательных мышц при обструктивных нарушениях дыхания во сне по данным электромиографического исследования. 2020. Вып. 78. С. 92–98. DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-92-98

For citation:

Miroshnichenko A.I., Kunarbava A.K., Ivanov K.M., Miroshnichenko I.V. The condition of the respiratory muscles in obstructive sleep disordered breathing according to electromyographic data. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* = *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2020; (78):92–98 (in Russian). DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-92-98

expiratory muscles was carried out using electromyography (EMG) when performing tests with a stepwise-increasing inspiratory and expiratory load. **Results.** During inspiratory test, a decrease in EMG frequency was observed, indicating respiratory muscles fatigue development, with a simultaneous increase in EMG amplitude due to the involvement of additional motoneurons in muscle contraction. In all cases, degree of increase in EMG amplitude prevailed over degree of decrease in EMG frequency. In patients of groups 3 and 4, there were no signs of diaphragm fatigue. Results of expiratory test in group 1, degree of increase in EMG amplitude prevailed over degree of decrease in EMG frequency. In the groups of patients with oSDB, prevalence of decrease in the EMG frequency over increase in EMG amplitude was observed, which indicates development of neuromuscular fatigue of expiratory muscles. **Conclusion.** Changes in functional state of respiratory muscles are associated with severity of oSDB and are characterized by different dynamics of the electrical activity of inspiratory and expiratory muscles in response to a functional test.

Key words: obstructive sleep disordered breathing, inspiratory muscles, expiratory muscles, electromyography.

Предполагается, что обструктивные нарушения дыхания во сне (ОНДС), приводящие к развитию интермиттирующей гипоксемии и увеличению инспираторного усилия, повышая нагрузку на дыхательные мышцы, могут способствовать развитию их утомления [1, 2]. Следует отметить, что при ОНДС происходит сужение просвета верхних дыхательных путей, сопровождающееся ограничением экспираторного потока [3]. В связи с этим выдох, являющийся пассивным в обычных условиях, становится активным, о чем свидетельствует увеличение электрической активности мышц живота в конце эпизодов апноэ как во время NREM-сна и REM-сна, так и во время дыхания, сопровождаемого храпом в 3 и 4 фазе NREM-сна у детей [4]. Существующие данные о влиянии ОНДС на функциональное состояние дыхательных мышц противоречивы и получены при изучении состояния диафрагмы и вспомогательных инспираторных мышц (ИМ) [5–8]. До настоящего времени малоизученным остаётся вопрос о функциональном состоянии экспираторных мышц (ЭМ) у взрослых пациентов с ОНДС.

Цель исследования – изучить функциональное состояние дыхательных мышц у пациентов с ОНДС различной степени тяжести на основании изменений их электрической активности при использовании ступенчато возрастающей респираторной нагрузки.

Материалы и методы исследования

Исследование одобрено Локальным этическим комитетом и проводилось при грантовой поддержке Оренбургского государственного медицинского университета.

Обследуемые были подробно проинформированы о применяемых методах исследования, ходе его проведения, возможности отказа в участии в исследовании и дали письменное согласие на участие в нем.

Критерии включения: наличие ОНДС, мужской пол, возраст 30–69 лет, способность к выполнению дыхательных манёвров, информированное добровольное согласие на участие в исследовании. Критерии исключения: острые и хронические заболевания дыхательной системы, патологические формы и деформации грудной клетки, операции на органах грудной клетки, ожирение 3 степени (ИМТ > 40 кг/м²); заболевания ЦНС и периферической нервной системы, сопровождающиеся нарушением нервно-мышечной проводимости; приём

препаратов, замедляющих нервно-мышечную проводимость; отказ от участия в исследовании.

Согласно критериям включения и исключения были обследованы 53 пациента, с жалобами на храп и избыточную дневную сонливость. По результатам кардиореспираторного мониторинга 5 пациентов были исключены из исследования в связи с невозможностью заснуть, остальные 48 обследуемых были разделены на 4 группы. В 1 группу вошли 16 пациентов без ОНДС (контрольная группа), во 2 группу – 16 пациентов с ОНДС лёгкой степени, в 3 группу – 8 пациентов с ОНДС средней степени, в 4 группу – 8 пациентов с ОНДС тяжёлой степени. Обследованные группы достоверно не различались по возрасту, сопутствующей патологии.

Кардиореспираторный мониторинг проводился по стандартной методике с помощью скрининговой системы ApneaLink (ResMed, Австралия). Диагноз ОНДС устанавливался согласно The International Classification of Sleep Disorders, Third Edition, 2014 (<https://vct.iuims.ac.ir/uploads/icsd.pdf>).

Для оценки электрической активности дыхательных мышц проводили биполярную поверхностную электромиографию (ЭМГ) на аппарате Нейро-ЭМГ-Микро (Нейрософт, Россия). Оценивали электрическую активность ИМ: грудинно-ключично-сосцевидной мышцы (ГКСМ), наружных межрёберных мышц (НММ), диафрагмы; и ЭМ: прямой мышцы живота (ПМЖ), внутренних межрёберных мышц (ВММ) и наружной косой мышцы живота (НКМ) с регистрацией средней амплитуды (мкВ), средней частоты (1/с). Поверхностные электроды были представлены металлическими дисками диаметром 8 мм, расположенными на фиксирующей колодке, расстояние между электродами составляло 12 мм. При проведении ЭМГ во избежание регистрации электрической активности сердца электроды накладывались с правой стороны тела. Ось фиксирующей колодки располагалась по направлению мышечных волокон. Для регистрации электрической активности дыхательных мышц были выбраны следующие точки [9]: для записи ЭМГ диафрагмы электроды были расположены на уровне наружного края прямой мышцы живота в 7 межреберье; НММ – в 3 межреберье по среднеключичной линии; ГКСМ – на 2–3 см выше ключицы в области брюшка мышцы; НКМ – в 6 межреберье по передней

подмышечной линии; ПМЖ – на уровне пупка латеральнее от него на 3см; ВММ – во 2 межреберье по окологрудинной линии.

С использованием тягонапомера определялись индивидуальные величины максимального инспираторного и экспираторного усилия, по которым рассчитывались мощности вдоха и выдоха в 30 и 50% от максимальных значений. Затем перед обследуемым ставилась задача удерживать по шкале тягонапомера инспираторное усилие мощностью 30% от максимального в течение 5 секунд. После отдыха продолжительностью 3 минуты обследуемому было необходимо удерживать инспираторное усилие мощностью 50% от максимального в течение 5 секунд. Функциональная проба проводилась трижды, с периодом отдыха между попытками в 3 минуты. Регистрация показателей ЭМГ производилась на 5 секунде. Для анализа использова-

лись средние значения показателей ЭМГ, полученные в результате 3 попыток, однако данные не включались в исследование, если при последовательном выполнении трёх попыток были зарегистрированы различия в значениях более 10%. Функциональная проба с экспираторным усилием проводилась по аналогичной методике.

Для обработки данных, полученных в результате исследования, применялся программный комплекс Statistica 10. Для клинических и инструментальных показателей, используемых в работе, рассчитывали медиану (Me), первый и третий квартили (Q1; Q3). Для оценки межгрупповых различий значений признаков применяли Н-критерий Краскелла-Уоллиса, оценка внутригрупповых различий значений признаков проводилась с использованием критерия Вилкоксона.

Таблица 1

Показатели частоты и амплитуды ЭМГ инспираторных мышц при выполнении функциональной пробы со ступенчато возрастающей инспираторной нагрузкой

Параметр	1 группа (n=16)	2 группа (n=16)	3 группа (n=8)	4 группа (n=8)	p
Грудинно-ключично-сосцевидная мышца, частота, 1/с					
30% 5с	220,16 (172,67; 243,95)	163,52 (144,3; 195,68)	239,25 (188,97; 305,0)	279,0 (237,35; 297,65)	0,002
50% 5с	159,18* (140,17; 186,2)	139,5* (117,2; 171,03)	194,75* (147,16; 233,0)	242,59* (224,75; 260,48)	0,088
Наружные межрёберные мышцы, частота, 1/с					
30% 5с	280,43 (183,31; 324,22)	223,45 (199,13; 278,6)	266,73 (241,62 330,95)	201,63 (187,48; 250,33)	0,173
50% 5с	225,64* (173,93; 299,71)	216,8* (179,99; 228,43)	236,03* (206,7; 274,42)	198,79* (184,18; 213,06)	0,638
Диафрагма, частота, 1/с					
30% 5с	369,54 (350,75; 389,72)	363,18 (328,5; 387,8)	381,93 (355,85; 399,95)	383,3 (301,5; 397,0)	0,848
50% 5с	344,75* (275,81; 375,15)	323,03* (296,37; 335,97)	364,1 (348,75; 394,92)	376,84 (323,05; 393,86)	0,295
Грудинно-ключично-сосцевидная мышца, амплитуда, мкВ					
30% 5с	3,83 (3,54; 6,01)	5,19 (3,99; 7,44)	3,35 (2,88; 5,13)	2,92 (2,71; 3,35)	0,001
50% 5с	7,19* (4,79; 10,44)	7,05* (5,14; 14,49)	4,93* (3,65; 8,53)	3,48* (3,15; 3,7)	0,009
Наружные межрёберные мышцы, амплитуда, мкВ					
30% 5с	3,12 (2,92; 4,27)	3,44 (3,03; 4,42)	3,16 (2,65; 3,29)	3,68 (3,38; 3,92)	0,112
50% 5с	4,60 (3,17; 5,14)	3,95* (3,47; 4,84)	3,38* (2,98; 3,93)	4,44* (3,85; 5,27)	0,288
Диафрагма, амплитуда, мкВ					
30% 5с	2,57 (2,51; 2,71)	2,58 (2,45; 2,73)	2,59 (2,44; 2,94)	2,54 (2,46; 2,98)	0,995
50% 5с	2,8* (2,6; 3,2)	2,8* (2,54; 3,02)	2,62* (2,52; 3,02)	2,61 (2,46; 3,07)	0,748

Примечание: p – достоверность различий между обследованными группами; * – достоверность различий в группе по сравнению с 30% 5с (p≤0,05).

Результаты исследования

При выполнении инспираторной функциональной пробы со ступенчато возрастающей нагрузкой (табл. 1) в группе пациентов без ОНДС произошло снижение показателей частоты ЭМГ ИМ. Так, частота ЭМГ ГКСМ уменьшилась на 27,7% ($p < 0,001$), частота ЭМГ НММ и диафрагмы – на 19,5% ($p = 0,017$) и 6,7% ($p = 0,001$), соответственно. Одновременно с уменьшением частоты ЭМГ наблюдалось увеличение амплитуды ЭМГ ГКСМ на 87,7% ($p < 0,001$), диафрагмы – на 8,9% ($p < 0,001$). В группе пациентов с ОНДС лёгкой степени при выполнении функциональной пробы произошло снижение частоты ЭМГ ГКСМ на 12,9% ($p = 0,004$), НММ – на 7,5% ($p = 0,026$), диафрагмы – на 11,2% ($p = 0,001$), а также было зарегистрировано уве-

личение амплитуды ЭМГ ГКСМ на 35,8% ($p < 0,001$), НММ – на 14,8% ($p = 0,008$), диафрагмы – на 8,5% ($p < 0,001$). В группе пациентов с ОНДС средней степени частота ЭМГ уменьшилась на ГКСМ на 18,5% ($p = 0,012$), НММ – на 11,5% ($p = 0,012$), частота ЭМГ диафрагмы достоверно не изменилась, также установлено увеличение амплитуды ЭМГ ГКСМ на 47,1% ($p = 0,012$), НММ – на 6,9% ($p = 0,012$), диафрагмы – на 1,2% ($p = 0,018$). В группе пациентов с ОНДС тяжёлой степени было зарегистрировано снижение частоты ЭМГ ГКСМ и НММ, составившее 13% ($p = 0,017$) и 1,4% ($p = 0,036$), соответственно, и увеличение амплитуды ЭМГ ГКСМ и НММ на 19,2% ($p = 0,012$) и 20,7% ($p = 0,012$), соответственно.

Таблица 2

Показатели частоты и амплитуды ЭМГ экспираторных мышц при выполнении функциональной пробы со ступенчато возрастающей экспираторной нагрузкой

Параметр	1 группа (n=16)	2 группа (n=16)	3 группа (n=8)	4 группа (n=8)	p
Наружная косая мышца живота, частота, 1/с					
30% 5с	336,92 (301,98; 380,0)	323,47 (239,13; 346,73)	357,95 (328,0; 381,69)	356,0 (337,83; 400,5)	0,110
50% 5с	329,65* (209,72; 373,87)	238,25* (202,39; 324,17)	291,42* (260,15; 348,1)	346,49* (290,32; 401,22)	0,077
Прямая мышца живота, частота, 1/с					
30% 5с	371,5 (297,77; 382,28)	367,32 (330,83; 377,54)	370,93 (357,22; 382,4)	390,5 (374,6; 400,53)	0,178
50% 5с	364,53 (245,39; 380,07)	334,35* (285,50; 366,68)	306,86* (270,87; 346,5)	373,62* (329,27; 399,68)	0,474
Внутренние межрёберные мышцы, частота, 1/с					
30% 5с	347,0 (313,23; 395,25)	333,5 (305,43; 365,75)	331,26 (292,12; 362,35)	391,6 (354,48; 399,95)	0,259
50% 5с	330,87* (286,84; 367,27)	309,64* (282,5; 342,49)	267,48* (232,4; 329,25)	384,3* (342,9; 398,04)	0,062
Наружная косая мышца живота, амплитуда, мкВ					
5с	2,62 (2,52; 2,77)	2,81 (2,61; 3,55)	2,65 (2,47; 2,79)	2,63 (2,47; 2,81)	0,439
10с	2,82* (2,68; 4,16)	3,37* (2,83; 3,86)	2,92* (2,57; 3,51)	2,91 (2,74; 3,04)	0,590
Прямая мышца живота, амплитуда, мкВ					
5с	2,48 (2,39; 2,55)	2,61 (2,5; 2,73)	2,51 (2,44; 2,62)	2,5 (2,44; 2,55)	0,067
10с	2,53* (2,47; 2,81)	2,86* (2,57; 3,03)	2,84* (2,73; 3,04)	2,78* (2,5; 3,02)	0,233
Внутренние межрёберные мышцы, амплитуда, мкВ					
5с	2,66 (2,53; 2,85)	2,63 (2,59; 2,89)	2,75 (2,63; 3,34)	2,56 (2,47; 2,64)	0,202
10с	2,8* (2,64; 3,34)	2,74* (2,68; 3,01)	3,04* (2,89; 4,24)	2,61 (2,48; 2,69)	0,065

Примечание: p – достоверность различий между обследованными группами; * – достоверность различий в группе по сравнению с 30% 5с ($p \leq 0,05$).

При анализе результатов экспираторной функциональной пробы со ступенчато возрастающей нагрузкой (табл. 2) в группе пациентов без ОНДС наблюдалось снижение частоты ЭМГ НКМ на 2,2% ($p=0,003$), ВММ – на 4,6% ($p=0,007$), и было выявлено увеличение амплитуды ЭМГ НКМ на 7,6% ($p<0,001$), ПМЖ и ВММ – на 2% ($p=0,036$) и 5,3% ($p<0,001$), соответственно. В группе пациентов с ОНДС лёгкой степени произошло уменьшение частоты ЭМГ НКМ на 26,3% ($p=0,001$), ПМЖ – на 8,9% ($p=0,015$), ВММ на 7,2% ($p=0,001$), а также увеличение амплитуды ЭМГ НКМ на 19,9% ($p<0,001$), ПМЖ – на 9,6% ($p=0,001$), ВММ – на 4,2% ($p<0,001$). В группе пациентов с ОНДС средней степени было зарегистрировано снижение частоты ЭМГ НКМ на 18,6% ($p=0,012$), ПМЖ и ВММ – на 17,3% ($p=0,012$) и 19,2% ($p=0,012$), соответственно. Амплитуда ЭМГ НКМ увеличилась на 10,2% ($p=0,012$), ЭМГ ПМЖ – на 13,1% ($p=0,012$), ЭМГ ВММ – на 10,5% ($p=0,018$). В группе пациентов с ОНДС тяжёлой степени произошло уменьшение частоты ЭМГ НКМ на 2,7% ($p=0,046$), ПМЖ – на 4,3% ($p=0,028$) и ВММ – на 1,7% ($p=0,028$) с одновременным увеличением только амплитуды ЭМГ ПМЖ на 11,2% ($p=0,043$).

Обсуждение результатов исследования

Увеличение амплитуды ЭМГ свидетельствует о привлечении в мышечное сокращение дополнительных мотонейронов [10]. Уменьшение показателей частоты ЭМГ или смещение центроидной частоты ЭМГ в сторону низких частот наблюдается при развитии мышечного утомления [11, 12]. Следует отметить, что у пациентов без ОНДС суммарный прирост амплитуды ЭМГ ИМ преобладал над суммарным уменьшением частоты ЭМГ ИМ при выполнении ступенчато возрастающей инспираторной нагрузки, свидетельствуя, таким образом, о том, что удержание и компенсация развивающегося утомления происходит за счёт включения в мышечное сокращение дополнительных мотонейронов. Сходная картина наблюдалась и в группе пациентов с ОНДС лёгкой степени. Однако в группах пациентов с ОНДС средней и тяжёлой степени

не было выявлено достоверных изменений частоты ЭМГ диафрагмы при выполнении нагрузочной пробы, что свидетельствует о развитии устойчивости диафрагмы к утомлению, формирующемуся при инспираторной нагрузке. Известно, что физические тренировки с удержанием инспираторного усилия, схожие по механизму действия с нагрузками на ИМ, возникающими при ОНДС, приводят к повышению устойчивости ИМ к утомлению [13, 14]. Кроме того адаптационное действие к физическим нагрузкам периодически возникающей гипоксии является общеизвестным фактом [15].

При анализе данных ЭМГ ЭМ, полученных при выполнении пробы с экспираторным усилием, у пациентов без ОНДС наблюдались аналогичные ИМ изменения, свидетельствующие о компенсации развивающегося утомления ЭМ за счёт вовлечения дополнительных мотонейронов в мышечное сокращение. По мере прогрессирования степени тяжести ОНДС наблюдалось преобладание уменьшения частоты ЭМГ ЭМ над увеличением амплитуды ЭМГ ЭМ, что может свидетельствовать о развитии нервно-мышечного утомления ЭМ при ступенчато возрастающей нагрузке.

Заключение

Таким образом, проведение ЭМГ дыхательных мышц с использованием ступенчато возрастающей нагрузочной вентиляционной пробы позволяет оценить их функциональное состояние на основании изменений электрической активности. Изменения функционального состояния дыхательных мышц при ОНДС связаны с тяжестью ОНДС и характеризуются различной динамикой электрической активности ИМ и ЭМ в ответ на функциональную нагрузочную вентиляционную пробу.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

ЛИТЕРАТУРА

1. Sleep-related breathing disorders in adults: recommendations for syndrome definition and measurement techniques in clinical research. The Report of an American Academy of Sleep Medicine Task Force // Sleep. 1999. Vol.22, №5. P.667–689.
2. Wilcox P.G., Pare P.D., Road J.D., Fleetham J.A. Respiratory muscle function during obstructive sleep apnea // Am. Rev. Respir. Dis. 1990. Vol.142, №3. P.533–539. doi: 10.1164/ajrccm/142.3.533
3. Stănescu D., Kostianev S., Sanna A., Liistro G., Veriter C. Expiratory flow limitation during sleep in heavy snorers // Eur. Respir. J. 1996. Vol.9, №10. P.2116–2121. doi: 10.1183/09031936.96.09102116
4. Praud J.P., D'allest A.M., Nedelcoux H., Curzi-Dascalova L., Guilleminault C., Gaultier C. Sleep-related abdominal muscle behavior during partial or complete obstructed breathing in prepubertal children // Pediatr. Res. 1989. Vol.26, №4. P.347–350. doi: 10.1203/00006450-198910000-00012
5. Martin R.J., Fernandez E., Hudgel D.W., Hill P. The association of sleep apnea to the high/low ratio of the diaphragmatic EMG (abstract) // Am. Rev. Respir. Dis. 1982. Vol.125. P.107.
6. Montserrat J.M., Kosmas E.N., Cosio M.G., Kimoff R.J. Lack of evidence for diaphragmatic fatigue over the course of the night in obstructive sleep apnea // Eur. Respir. J. 1997. Vol.10, №1. P.133–138. doi: 10.1183/09031936.97.10010133

7. Vincken W., Guilleminault C., Silvestri L., Cosio M., Grassino A. Inspiratory muscle activity as a trigger causing the airways to open in obstructive sleep apnea // *Am. Rev. Respir. Dis.* 1987. Vol.135, №2. P.372–377. doi: 10.1164/arrd.1987.135.2.372
8. Griggs G.A., Findley L.J., Suratt P.M., Esau S.A., Wilhoit S.C., Rochester D.F. Prolonged relaxation rate of inspiratory muscles in patients with sleep apnea // *Am. Rev. Respir. Dis.* 1989. Vol.140, №3. P.706–710. doi: 10.1164/ajrccm/140.3.706
9. Ершов С. П., Перельман Ю. М. Электрофизиологическая характеристика дыхательных мышц у больных хроническим бронхитом // *Бюллетень физиологии и патологии дыхания.* 1999. Вып.5. С.28–35.
10. Miller K.J., Garland S.J., Ivanova T., Ohtsuki T. Motor-unit behavior in humans during fatiguing arm movements // *J. Neurophysiol.* 1996. Vol.75, №4. P.1629–1636. doi: 10.1152/jn.1996.75.4.1629
11. Солнушкин С.Д., Чихман В.Н., Сегизбаева М.О., Погодин М.А., Александров В.Г. Аппаратно-программный комплекс для регистрации и анализа электромиограммы дыхательных мышц человека // *Физиология человека.* 2014. Т.40, №2. С.119–122. doi: 10.7868/S0131164614010184
12. Сегизбаева М.О., Александрова Н.П., Тимофеев Н.Н., Курьянович Е.Н. Функциональное состояние инспираторных мышц человека при физических нагрузках «до отказа»: ЭМГ-анализ // *Актуальные проблемы физической и специальной подготовки силовых структур.* 2015. №3. С.79–90.
13. Тимофеев Н.Н., Сегизбаева М.О., Курьянович Е.Н., Александрова Н.П. Влияние тренировки инспираторных мышц на их устойчивость к развитию утомления при интенсивных мышечных нагрузках // *Актуальные проблемы физической и специальной подготовки силовых структур.* 2015. №3. С.91–101.
14. Geddes E.L., O'Brien K., Reid W.D., Brooks D., Crowe J. Inspiratory muscle training in adults with chronic obstructive pulmonary disease: an update of a systematic review // *Respir. Med.* 2008. Vol.102, №12. P.1715–1729. doi: 10.1016/j.rmed.2008.07.005
15. Hoppeler H., Vogt M. Muscle tissue adaptations to hypoxia // *J. Exp. Biol.* 2001. Vol.204 (Pt 18). P. 3133–3139.

REFERENCES

1. Sleep-related breathing disorders in adults: recommendations for syndrome definition and measurement techniques in clinical research. The Report of an American Academy of Sleep Medicine Task Force. *Sleep* 1999; 22(5):667–689.
2. Wilcox P.G., Paré P.D., Road J.D., Fleetham J.A. Respiratory muscle function during obstructive sleep apnea. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1990; 142(3):533–539. doi: 10.1164/ajrccm/142.3.533
3. Stănescu D., Kostianev S., Sanna A., Liistro G., Veriter C. Expiratory flow limitation during sleep in heavy snorers. *Eur. Respir. J.* 1996; 9(10): 2116–2121. doi: 10.1183/09031936.96.09102116
4. Praud J.P., D'allest A.M., Nedelcoux H., Curzi-Dascalova L., Guilleminault C., Gaultier C. Sleep-related abdominal muscle behavior during partial or complete obstructed breathing in prepubertal children. *Pediatr. Res.* 1989; 26(4):347–350. doi: 10.1203/00006450-198910000-00012
5. Martin R.J., Fernandez E., Hudgel D.W., Hill P. The association of sleep apnea to the high/low ratio of the diaphragmatic EMG (abstract). *Am. Rev. Respir. Dis.* 1982; 125:107.
6. Montserrat J.M., Kosmas E.N., Cosio M.G., Kimoff R.J. Lack of evidence for diaphragmatic fatigue over the course of the night in obstructive sleep apnea. *Eur. Respir. J.* 1997; 10(1):133–138. doi: 10.1183/09031936.97.10010133
7. Vincken W., Guilleminault C., Silvestri L., Cosio M., Grassino A. Inspiratory muscle activity as a trigger causing the airways to open in obstructive sleep apnea. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1987; 135(2):372–377. doi: 10.1164/arrd.1987.135.2.372
8. Griggs G.A., Findley L.J., Suratt P.M., Esau S.A., Wilhoit S.C., Rochester D.F. Prolonged relaxation rate of inspiratory muscles in patients with sleep apnea. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1989; 140(3):706–710. doi: 10.1164/ajrccm/140.3.706
9. Ershov S.P., Perelman J.M. Respiratory muscle electrophysiological evaluation in patients with chronic bronchitis. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 1999; (5):28–35 (in Russian).
10. Miller K.J., Garland S.J., Ivanova T., Ohtsuki T. Motor-unit behavior in humans during fatiguing arm movements. *J. Neurophysiol.* 1996; 75(4):1629–1636. doi: 10.1152/jn.1996.75.4.1629
11. Solnushkin S.D., Chihman V.N., Segizbaeva M.O., Aleksandrov V.G. Hardware and software for EMG recording and analysis of respiratory muscles of human. *Human Physiology* 2014; 40(2):220–223. doi: 10.1134/S0362119714010174
12. Segizbayeva M.O., Alexandrova N.P., Timofeev N.N., Kur'yanovich E.N. Functional condition of inspiratory muscles of the person under exercise stresses "to refusal": EMG-analysis. *Actual Problems of Physical and Special Training of Law Enforcement Agencies* 2015; (3):79–90 (in Russian).
13. Timofeev N.N., Segizbayeva M.O., Kur'yanovich E.N., Alexandrova N.P. The inspiratory muscles training influence on the resistance to fatigue development under intensive muscle exercising. *Actual Problems of Physical and Special Training of Law Enforcement Agencies* 2015; (3):91–101 (in Russian).
14. Geddes E.L., O'Brien K., Reid W.D., Brooks D., Crowe J. Inspiratory muscle training in adults with chronic obstructive pulmonary disease: an update of a systematic review. *Respir. Med.* 2008; 102(12):1715–1729. doi:

10.1016/j.rmed.2008.07.005

15. Hoppeler H., Vogt M. Muscle tissue adaptations to hypoxia. *J. Exp. Biol.* 2001; 204 (Pt 18): 3133–3139.

Информация об авторах:

Анастасия Игоревна Мирошниченко, аспирант кафедры пропедевтики внутренних болезней, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; e-mail: miroshni4enko.nast@yandex.ru

Адель Камидулловна Кунарбаева, аспирант кафедры пропедевтики внутренних болезней, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; e-mail: kunarbaeva.adel@yandex.ru

Константин Михайлович Иванов, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой пропедевтики внутренних болезней, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; e-mail: kmiwanov@mail.ru

Игорь Васильевич Мирошниченко, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой нормальной физиологии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; e-mail: miv_2000@mail.ru

Author information:

Anastasia I. Miroshnichenko, Postgraduate Student of the Department of Propaedeutic of Internal Medicine, Orenburg State Medical University; e-mail: miroshni4enko.nast@yandex.ru

Adel K. Kunarbaeva, Postgraduate Student of the Department of Propaedeutic of Internal Medicine, Orenburg State Medical University; e-mail: kunarbaeva.adel@yandex.ru

Konstantin M. Ivanov, MD, PhD, D.Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Propaedeutic of Internal Medicine, Orenburg State Medical University; e-mail: kmiwanov@mail.ru

Igor V. Miroshnichenko, MD, PhD, D.Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Normal Physiology, Orenburg State Medical University; e-mail: miv_2000@mail.ru

Поступила 20.10.2020
Принята к печати 10.11.2020

Received October 20, 2020
Accepted November 10, 2020

УДК 616.25-002:616.155.392-006.441-036.12

DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-99-103

ПЛЕВРИТЫ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ

А.А.Синюк¹, В.В.Войцеховский²

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95

РЕЗЮМЕ. Цель. Установить клинико-лабораторные особенности течения плевритов у больных хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ), проживающих в Амурской области. **Материалы и методы.** Изучены истории болезни и амбулаторные карты 75 пациентов с ХЛЛ в стадиях В и С по классификации J.Binet, находившихся на лечении в гематологическом отделении Амурской областной клинической больницы в 2012-2018 гг. **Результаты.** У 28 больных (37%) был выявлен экссудативный плеврит. Наиболее частой причиной возникновения плеврита у больных ХЛЛ была лимфоидная инфильтрация плевры (18 пациентов), реже развивался инфекционный плеврит (10 больных). На основании изучения особенностей течения специфического лимфопролиферативного (СЛП) и инфекционного (ИП) плевритов установлены существенные различия по клиническому течению и лабораторным данным. При ИП преобладали «плевральные» проявления и клиника пневмонии, осложнением которой он явился, при лабораторном исследовании экссудата преобладали нейтрофилы. Прогноз ИП в большинстве случаев благоприятный. При СЛП преобладала клиника опухолевого процесса, при лабораторном исследовании экссудата – опухолевые лимфоциты, геморрагический характер жидкости. СЛП возникает в стадию злокачественной трансформации ХЛЛ, часто являясь ее первым проявлением. **Заключение.** Присоединение СЛП является неблагоприятным прогностическим фактором для больных ХЛЛ.

Ключевые слова: хронический лимфолейкоз, инфекционный плеврит, лимфоидная инфильтрация плевры, специфический лимфопролиферативный плеврит.

PLEURISY IN PATIENTS WITH CHRONIC LYMPHOID LEUKEMIA

A.A.Sinyuk¹, V.V.Voitsekhovskiy²

¹Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

²Amur State Medical Academy, 95 Gor'kogo Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

SUMMARY. Aim. To establish the clinical and laboratory features of the pleurisy course in patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL) living in the Amur Region. **Materials and methods.** We studied the case histories and outpatient records of 75 patients with CLL in stages B and C according to the J.Binet classification who were treated in the hematology department of the Amur Regional Clinical Hospital in 2012-2018. **Results.** Exudative pleurisy was found in 28 patients (37%). The most common cause of pleurisy in patients with CLL was lymphoid infiltration of the pleura (18 patients), less often – infectious pleurisy developed (10 patients). Based on the study of the peculiarities of the course of specific lymphoproliferative and infectious pleurisy, significant differences in the clinical course and laboratory data were established. With infectious pleurisy, “pleural” manifestations and clinical manifestations of pneumonia, the complication of which it was, prevailed; in laboratory examination of exudate, neutrophils prevailed. The prognosis of infectious pleurisy is favorable in most cases. The clinical picture of the tumor process prevailed in specific lymphoproliferative pleurisy, in the laboratory study of exudate – tumor lymphocytes, the hemorrhagic nature of the fluid. Specific lymphoproliferative

Контактная информация

Анастасия Андреевна Синюк, врач клинической лабораторной диагностики, младший научный сотрудник лаборатории молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22. E-mail: amur.asua@gmail.com

Correspondence should be addressed to

Anastasia A. Sinyuk, MD, Clinical Laboratory Diagnostics Doctor, Junior Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation. E-mail: amur.asua@gmail.com

Для цитирования:

Синюк А.А., Войцеховский В.В. Плевриты у больных хроническим лимфолейкозом // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2020. Вып.78. С.99–103. DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-99-103

For citation:

Sinyuk A.A., Voytsekhovskiy V.V. Pleurisy in patients with chronic lymphoid leukemia. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2020; (78):99–103 (in Russian). DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-99-103

pleurisy occurs at the stage of malignant transformation of CLL, often being its first manifestation. **Conclusion.** The attachment of the specific lymphoproliferative pleurisy is an unfavorable prognostic factor for patients with CLL.

Key words: chronic lymphocytic leukemia, infectious pleurisy, lymphoid infiltration of the pleura, specific lymphoproliferative pleurisy.

Экссудативный плеврит является одним из самых серьезных осложнений хронического лимфолейкоза (ХЛЛ) [1]. Его природа может быть различной: парани метапневмонический плеврит при банальной инфекции, туберкулезный плеврит, лимфатическая инфильтрация плевры, сдавление или разрыв грудного лимфатического протока. Плеврит инфекционного происхождения чаще всего является осложнением пневмонии, в экссудате наряду с лимфоцитами определяется большое количество нейтрофилов [1]. При сдавлении или разрыве грудного лимфатического протока экссудат будет лимфатическим, но жидкость содержит большое количество жира (хилезная жидкость) [2]. Наиболее часто встречается специфический лимфопролиферативный плеврит (СЛП), как проявление лимфатической инфильтрации плевры. Лимфоидная инфильтрация плевры чаще присоединяется в стадию злокачественной трансформации ХЛЛ [3] и по данным разных авторов встречается у 12-29,4% больных ХЛЛ [1, 3].

Рентгенологически злокачественное поражение плевры характеризуется скоплением большого количества жидкости в плевральной полости, быстро накапливающейся после плевральной пункции [4, 5]. Диагностику лимфопролиферативного плеврита помогает компьютерная томография, при которой часто удаётся выявить опухолевый рост в плевре, инфильтрацию или саркомные узлы [4, 6]. Лечение СЛП сложное и длительное. Местное введение цитостатических препаратов обычно малоэффективно [1]. Лучшие результаты даёт общая цитостатическая терапия по современным схемам лечения ХЛЛ [7, 8]. Иногда приходится прибегать к облучению плевры (по касательной) [1]. Левосторонний плеврит в большинстве случаев имеет место при значительном увеличении селезенки, в данной ситуации спленэктомия может привести к ликвидации плеврита на многие годы [1, 9].

Цель настоящего исследования – изучить клинико-лабораторные особенности течения плевритов у больных ХЛЛ, проживающих в Амурской области.

Материалы и методы исследования

Изучены истории болезни и амбулаторные карты 75 больных ХЛЛ в стадиях В и С по классификации J.Binet [10] находившихся на лечении в гематологическом отделении Амурской областной клинической больницы в 2012-2018 гг.

Результаты исследования и их обсуждение

У 28 из 75 пациентов с ХЛЛ (37%) был выявлен экссудативный плеврит. Наиболее часто экссудативный плеврит был диагностирован у больных ХЛЛ в стадии

С по J.Binet со значительным увеличением селезенки – 15 человек.

У 21 больного в плевральной полости имелся экссудат в значительном количестве – от 500 до 2500 мл. У 7 пациентов объем выпота был менее 500 мл и диагноз плеврита был выставлен при КТ.

Экссудативный плеврит локализовался справа у 13 больных ХЛЛ, слева – у 15 пациентов. У 7 больных в терминальной стадии заболевания имел место двусторонний плеврит.

У 17 пациентов плеврит развивался на фоне инфильтративного процесса в легких (острая пневмония, лейкозная инфильтрация легкого). При этом только у 3 больных лимфоидная инфильтрация легкого была при жизни выявлена рентгенологическими методами. У 4 пациентов она была обнаружена после аутопсии при микроскопическом исследовании (рис. 1). У 11 больных лимфатической инфильтрации в легком выявлено не было, плеврит в этом случае развивался как следствие изолированной лимфоидной инфильтрации плевры.

Для определения этиологического фактора экссудата (опухолевый или инфекционный) проводилось цитологическое исследование плеврального выпота. У 18 пациентов был диагностирован СЛП, у 10 больных установлена инфекционная этиология плеврального экссудата.

У всех больных с наличием СЛП при цитологическом исследовании экссудата были обнаружены лимфоциты в большом количестве (табл. 1), у 44% пациентов имел место геморрагический характер выпота, что является признаком злокачественного экссудата [11, 12]. Геморрагический выпот объясняется лимфоидной инфильтрацией плевры и геморрагическим синдромом вследствие развития тромбоцитопении. У 17% больных данной группы в плевральной жидкости отмечалось низкое содержание глюкозы и снижение рН плевральной жидкости ниже. У этих пациентов отмечалось наиболее злокачественное течение плеврального процесса.

У 10 больных с плевритом инфекционной этиологии при цитологическом исследовании экссудата кроме лимфоцитов было много нейтрофилов (табл. 1). Геморрагический экссудат в этой подгруппе не зарегистрирован. Показатели глюкозы и рН плевральной жидкости у всех больных II подгруппы были в пределах нормы.

Плеврит туберкулезной этиологии и «хилезный» экссудат вследствие сдавления или разрыва грудного лимфатического протока увеличенными лимфоузлами средостения в нашем исследовании не зарегистрированы.

Таблица 1
**Лабораторная диагностика экссудативных
плевритов у больных ХЛЛ**

Показатели		СПЛ (n=18)	ИП (n=10)
Лимфоциты		18	10
Нейтрофилы		-	10
Геморрагический выпот		8	-
Глюкоза	>60 мг/100 мл	15	10
	<60 мг/100 мл	3	-
рН	>7,2	15	10
	<7,2	3	-

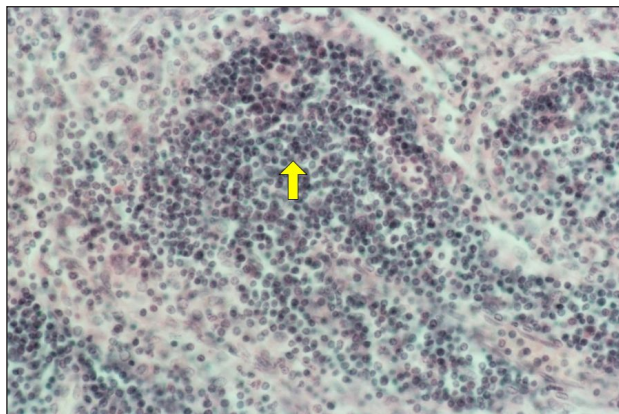


Рис. 1. Больная К., 57 лет. ХЛЛ, стадия С по классификации J.Vinet. Диффузная лимфоидная инфильтрация ткани легкого (↑) с развитием ателектаза. Окраска: гематоксилин и эозин. Увеличение: 280.

СПЛ в нашем исследовании выявлен в 24% случаев от общего количества больных ХЛЛ, что соответствует данным других авторов [1, 12, 13]. Наиболее частыми проявлениями СПЛ были: одышка у 89% больных, а также симптомы, связанные с опухолевой интоксикацией: снижение массы тела у всех 18 пациентов, лихорадка у 44% больных, анорексия у 33% пациентов. Тупую и ноющую боль в грудной клетке испытывала треть (28%) больных ХЛЛ с наличием СПЛ. Появление СПЛ у 10 (56%) пациентов было первым проявлением терминальной стадии ХЛЛ. У 14 (78%) пациентов клиника СПЛ отличалась упорным, постоянно рецидивирующим течением. Объем экссудата у абсолютного большинства больных (90%) был значительным – от 500 до 2500 мл (табл. 2).

Лечение СПЛ проводилось по общепринятым методикам [14] – торакоцентез с удалением экссудата и последующим местным введением цитостатических

Таблица 2
**Клинические и рентгенологические проявления
плевритов у больных ХЛЛ**

Симптомы		СПЛ (n=18)	ИП (n=10)
Боли в грудной клетке		5	8
плевральные		-	8
тупые, ноющие		5	-
с иррадиацией		-	2
Повышение температуры		8	10
Кашель		3	10
Одышка		16	10
Снижение массы тела		18	1
Анорексия		6	2
Наличие инфильтрации в легком		7	10
Объем экссудата	более 500 мл	16	5
	менее 500 мл	2	5

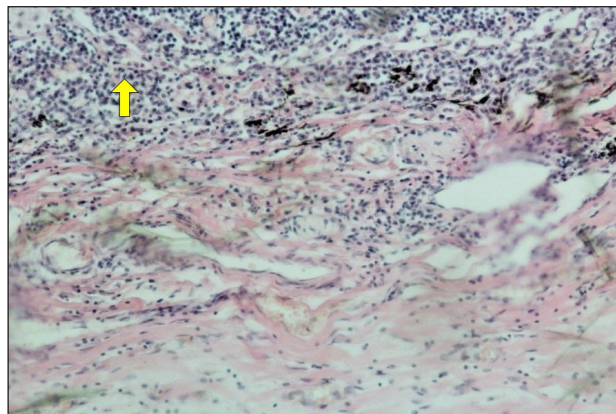


Рис. 2. Больной Ч., 77 лет. ХЛЛ, терминальная стадия, синдром Рихтера. Диффузная лимфоидная инфильтрация плевры (↑). Окраска: гематоксилин и эозин. Увеличение: 160.

препаратов (циклофосфан), курсы полихимиотерапии (RFC, RB, RFCM, R-СНОР), лучевой терапии и т.д. Стойкого терапевтического эффекта достигнуть в большинстве случаев не удалось. У большинства больных (14 человек) жидкость быстро накапливалась вновь. У всех 14 больных был констатирован летальный исход. При патологоанатомическом исследовании у них выявлена лимфоидная инфильтрация плевры (рис. 2).

Лишь у 4 больных отмечалось длительное течение СПЛ (24-46 месяцев). Это были пациенты с левосторонним плевритом при значительном увеличении селезенки, у которых плеврит был купирован после проведения химиотерапии и достижения полной (1 чел.) или частичной (2 чел.) ремиссии, либо после спленэктомии (1 чел.).

Инфекционный плеврит (ИП), зарегистрированный у 10 (13,3%) больных ХЛЛ, во всех случаях являлся

осложнением острой пневмонии (табл. 2). У всех больных заболевание началось остро, с резкого подъема температуры, в 80% случаев сопровождалась болями в грудной клетке, кашлем с отделением мокроты, повышением СОЭ. Характерные плевральные боли отмечались у 80% больных ХЛЛ, осложненным ИП. Эти боли были четко локализованы и совпадали с местом поражения плевры. У двух пациентов боли иррадиировали в область живота.

Объем плевральной жидкости у больных ХЛЛ с ИП был значительно меньше объема экссудата у больных СЛП. У 5 больных с плевритом, развившимся как осложнение пневмонии, патологические изменения были диагностированы только при компьютерной томографии.

Течение ИП при ХЛЛ зависело от тяжести пневмонии, осложнением которой он явился, и от адекватности противовоспалительной терапии.

Выводы

1. Экссудативный плеврит является довольно частым осложнением ХЛЛ – 37% от общего количества больных ХЛЛ.

2. Наиболее частой причиной возникновения экссудативного плеврита у больных ХЛЛ является лимфоидная инфильтрация плевры, реже возникает инфекционный плеврит (24,0 и 13,3% случаев, соответственно).

3. Имеются существенные различия по клиническому течению и лабораторным данным между специ-

фическим лимфопролиферативным и инфекционным плевритом у больных ХЛЛ.

4. При инфекционном характере экссудата преобладали «плевральные» проявления и клиника пневмонии, осложнением которой он явился, при лабораторном исследовании преобладали нейтрофилы. Прогноз инфекционного плеврита зависел от адекватности противовоспалительной терапии и в большинстве случаев был благоприятным.

5. Специфический лимфопролиферативный плеврит присоединялся в стадию злокачественной трансформации ХЛЛ, часто являясь ее первым проявлением. Преобладала клиника опухолевого процесса, при лабораторном исследовании экссудата – опухолевые лимфоциты, геморрагический характер жидкости. Присоединение специфического лимфопролиферативного плеврита является неблагоприятным прогностическим фактором для больных ХЛЛ.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Источники финансирования

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

1. Руководство по гематологии / под ред. А.И.Воробьева. Изд. 4-е. М.: Ньюдиамед, 2007. 1275 с. ISBN: 978-5-88107-074-8
2. Лайт Р.У. Болезни плевры: пер. с англ. М.: Медицина, 1986. 374 с.
3. Файнштейн Ф.Э., Козинец Г.И., Бахрамов С.М., Хохлова М.П. Болезни системы крови. Ташкент: Медицина, 1987. 672 с.
4. Волкова М.А. Амбулаторное лечение и диспансеризация больных хроническими лейкозами. М.: Медицина, 1979. 216 с.
5. Ландышев Ю.С., Леншин А.В., Войцеховский В.В. Рентгенофункциональная диагностика легочных осложнений у больных хроническим лимфолейкозом // Пульмонология. 2004. №6. С.34–40.
6. Войцеховский В.В., Есенина Т.В., Филатова Е.А., Макарова Н.В. Инфекционные осложнения гемобластозов при проведении программной химиотерапии // Амурский медицинский журнал. 2016. №2(14). С.20–25.
7. Программное лечение заболеваний системы крови / под ред. В.Г.Савченко М.: Практика, 2018. Т.2. 1256 с.
8. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний / под ред. И.В.Поддубной, В.Г.Савченко. М.: Буки-Веди, 2018. 356 с. ISBN: 978-5-4465-1990-3
9. Войцеховский В.В., Заболотских Т.В., Григоренко А.А., Филатова Е.А. Бронхолегочные осложнения хронических лейкозов. Благовещенск: ДальГАУ, 2019. 167 с.
10. Binet J.L., Auquier A., Dighiero G., Chastang C., Piguier H., Goasguen J., Vaugier G., Potron G., Colona P., Oberling F., Thomas M., Tchernia G., Jacquillat C., Boivin P., Lesty C., Duault M.T., Monconduit M., Belabbes S., Gremy F. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from multivariate survival analysis // Cancer. 1981. Vol.48, №1. P.198–206. doi: 10.1002/1097-0142(19810701)48:1<198::aid-cnrcr2820480131>3.0.co;2-v
11. Респираторная медицина: руководство в 3-х т. / под ред. А.Г.Чучалина. М.: Литерра, 2017. Т.1. 640 с.
12. Соколов В.А. Плевриты. Екатеринбург: Баско, 1998. 237 с.
13. Гематология. Национальное руководство / под ред. О.А.Рукавицина. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2015. 776 с.
14. Клиническая онкогематология: руководство для врачей. 2-е изд. / под ред. М.А.Волковой. М.: Медицина, 2007. 1120 с.

REFERENCES

1. Vorob'yov A.I., editor. Guide to Hematology. 4th edition. Moscow: N'yudiamed; 2007 (in Russian). ISBN 978-5-88107-074-8
2. Light R.W. Pleural Diseases. Moscow: Meditsina; 1986 (in Russian).
3. Fainshtein F.E., Kozinets G.I., Bakhrarov S.M., Khokhlova M.P. Blood Diseases. Tashkent: Meditsina; 1987 (in Russian).
4. Volkova M.A. Outpatient treatment and clinical examination of patients with chronic leukemia. Moscow: Meditsina; 1979 (in Russian).
5. Landyshev Yu.S., Lenshin A.V., Voitsekhovskiy V.V. Radiological and functional diagnosis of pulmonary complications in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Pulmonologiya* 2004; (6):34–40 (in Russian).
6. Voytsekhovskiy V.V., Yesenina T.V., Filatova E.A., Makarova N.V. Infectious complications of hemoblastosis during program chemotherapy. *Amur Medical Journal* 2016. (2). 20–25 (in Russian).
7. Savchenko V.G., editor. Program treatment of the blood system diseases. Moscow: Praktika; 2018. Vol.2 (in Russian).
8. Poddubnaya I.V., Savchenko V.G., editors. Russian Clinical Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Lymphoproliferative Diseases. Moscow: Buki-Vedi; 2018 (in Russian).
9. Voytsekhovskiy V.V., Zabolotskikh T.V., Grigorenko A.A., Filatova E.A. Bronchopulmonary complications of chronic leukemia. Blagoveshchensk: DalGAU; 2019 (in Russian).
10. Binet J.L., Auquier A., Dighiero G., Chastang C., Piguat H., Goasguen J., Vaugier G., Potron G., Colona P., Oberling F., Thomas M., Tchernia G., Jacquillat C., Boivin P., Lesty C., Duault M.T., Monconduit M., Belabbes S., Gremy F. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from multivariate survival analysis. *Cancer* 1981; 48(1):198–206. doi: 10.1002/1097-0142(19810701)48:1<198:aid-cnrcr2820480131>3.0.co;2-v
11. Chuchalin A.G., editor. Respiratory medicine. Moscow: Literra; 2017. Vol.1 (in Russian).
12. Sokolov V.A. Pleurisy. Yekaterinburg: Basco; 1998 (in Russian).
13. Rukavitsyn O.A., editor. Hematology. National guidelines. Moscow: GEOTAR Media; 2015 (in Russian).
14. Volkova M.A., editor. Clinical Oncohematology: a Guide for Physicians. Moscow: Meditsina; 2007 (in Russian).

Информация об авторах:

Анастасия Андреевна Синюк, врач клинической лабораторной диагностики, младший научный сотрудник лаборатории молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: amur.asua@gmail.com

Валерий Владимирович Войцеховский, д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой госпитальной терапии с курсом фармакологии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации; e-mail: voitsehovskij@yandex.ru

Author information:

Anastasia A. Sinyuk, MD, Clinical Laboratory Diagnostics Doctor, Junior Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: amur.asua@gmail.com

Valeriy V. Voytsekhovskiy, MD, PhD, D.Sc. (Med.), Associate Professor, Head of Department of Hospital Therapy with Pharmacology Course, Amur State Medical Academy; e-mail: voitsehovskij@yandex.ru

Поступила 01.10.2020
Принята к печати 19.10.2020

Received October 01, 2020
Accepted October 19, 2020

УДК 612.24[(617.51-001-06:616.89-008.441.12):613.81]:616-092.4

DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-104-109

НЕГАЗООБМЕННЫЕ ФУНКЦИИ ЛЁГКИХ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АЛКОГОЛИЗМЕ И ЕГО СОЧЕТАНИИ С ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМОЙ

М.А.Уракова

Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 426034, г. Ижевск, ул. Коммунаров, 281

РЕЗЮМЕ. Цель. Изучить негасообменные функции лёгких при алкоголизме и его сочетании с черепно-мозговой травмой (ЧМТ) в эксперименте. **Материалы и методы.** Опыты проведены на 107 половозрелых крысах-самцах. У животных первой группы моделировали алкоголизм путём замены питьевой воды на 20% раствор этанола в течение 20 недель. Крысам второй группы сочетали моделирование алкоголизма и ЧМТ лёгкой степени тяжести. ЧМТ моделировали путем «свободного падения груза» массой 175 г с высоты 30 см. Контролем служили интактные животные. **Результаты.** Алкоголизм приводил к понижению общего количества альвеолярных фосфолипидов с изменением их фракционного состава, что вызывало ухудшение поверхностной активности лёгких, снижалась поглотительная активность альвеолярных макрофагов, наблюдалось увеличение количества общей жидкости и кровенаполнения лёгких на фоне повышения содержания NO в артериальной и венозной крови. Сочетание длительного приёма этанола и ЧМТ вызывало увеличение общих фосфолипидов сурфактанта, однако низкий уровень фосфатидилхолина в его составе способствовал повышению поверхностного натяжения лёгких. Степень изменений фагоцитарной активности альвеолярных макрофагов и водного баланса лёгких, выявленная при приёме этанола, усиливалась в условиях дополнительного травматического повреждения мозга. **Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют о дисбалансе липидного и водного обмена лёгких, дисфункции лёгочного эндотелия, снижении активности альвеолярных макрофагов при алкоголизме и его сочетании с ЧМТ.

Ключевые слова: алкоголизм, черепно-мозговая травма, сурфактант и водный обмен лёгких, альвеолярные макрофаги.

NON-GAS EXCHANGE LUNG FUNCTIONS IN EXPERIMENTAL ALCOHOL ADDICTION AND ITS COMBINATION WITH TRAUMATIC BRAIN INJURY

M.A.Urakova

Izhevsk State Medical Academy, 281 Kommunarov Str., Izhevsk, 426034, Russian Federation

SUMMARY. Aim. To investigate non-gas exchange functions of the lungs in alcohol addiction and its combination with traumatic brain injury (TBI). **Materials and methods.** Experiments were conducted in 107 adult male rats. In animals of the first group the alcohol addiction was simulated by substitution of water for 20% ethanol solution during 20 weeks. In rats of the second group simulation of alcohol addiction and mild TBI were combined. TBI was modeled by weight-drop of 175 g from 30 cm level method. Intact animals were assumed as reference. **Results.** Alcohol addiction resulted to a decrease of the total number of alveolar phospholipids with change of their fractional composition that leads to aggravation of lung surface activity; alveolar macrophages absorbing activity was deteriorated and increase of total fluid and lung blood filling was observed in the setting of arterial and venous blood NO level increase. Combination of prolonged ethanol intake and TBI caused to the increase of total surfactant phospholipids; however, low phosphatidylcholine level in its composition promoted increase of lung surface tension. The grade of changes of alveolar macrophages phagocytes activity and lung water balance revealed after ethanol intake was increased in the setting of additional TBI. **Conclusion.**

Контактная информация

Мария Анатольевна Уракова, канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры патофизиологии и иммунологии, Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 426034, Россия, г. Ижевск, ул. Коммунаров, 281. E-mail: urakova-mariya@yandex.ru

Correspondence should be addressed to

Maria A. Urakova, MD, PhD (Med.), Associate Professor, Department of Pathological Physiology and Immunology, Izhevsk State Medical Academy, 281 Kommunarov Str., Izhevsk, 426034, Russian Federation. E-mail: urakova-mariya@yandex.ru

Для цитирования:

Уракова М.А. Негасообменные функции лёгких при экспериментальном алкоголизме и его сочетании с черепно-мозговой травмой // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2020. Вып.78. С.104–109. DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-104-109

For citation:

Urakova M.I. Non-gas exchange lung functions in experimental alcohol addiction and its combination with traumatic brain injury. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2020; (78):104–109 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2020-78-104-109

The obtained results provide evidences of imbalance of lipid and water lung metabolism, lung endothelium dysfunction, decrease of alveolar macrophages activity in alcohol addiction and its combination with TBI.

Key words: alcohol addiction, traumatic brain injury, surfactant and water lung metabolism, alveolar macrophages.

К настоящему времени алкоголизм является одной из самых актуальных медико-социальных проблем. В клинических исследованиях обнаружено повреждающее действие алкоголя на дыхательную систему, способствующее высокой частоте развития этанол-индуцированных пневмоний [1]. Изучение риска появления острого респираторного дистресс-синдрома у пациентов с септическим шоком выявило его зависимость от приёма алкоголя и обнаружило двукратное увеличение поражения лёгких у лиц, длительно употреблявших этанол по сравнению с данными у пациентов без алкоголизма [2]. Важно отметить, что алкогольное опьянение усиливает частоту возникновения черепно-мозговой травмы (ЧМТ) [3], однако при этом патология дыхательной системы при сочетании алкоголизма и ЧМТ изучена недостаточно.

Целью нашего исследования стало изучение нереспираторных функций лёгких при моделировании алкоголизма и его сочетания с ЧМТ.

Материалы и методы исследования

Эксперименты проведены на 107 половозрелых беспородных крысах-самцах массой 220-270 г. Опыты проводились с соблюдением требований Европейской конвенции (Страсбург, 1986) по содержанию, кормлению и уходу за подопытными животными. Исследование одобрено комитетом по биомедицинской этике Ижевской государственной медицинской академии (протокол №524 от 22.11.2016 г.). Для моделирования алкоголизма животным 1 группы (n=56) в течение 20 недель заменяли питьевую воду в поилках на 20% раствор этанола с учётом ежедневной выпитой дозы более 5 мг/кг веса [4]. Животным 2 группы воспроизводили алкоголизм по методике, описанной выше, и спустя 20 недель у этанол-зависимых крыс (n=32) моделировали ЧМТ легкой степени тяжести. Травматическое воздействие на мозг осуществляли под этиминаловым наркозом (30 мг/кг) путем «свободного падения груза» массой 175 г с высоты 30 см [5]. Контролем служили интактные животные (n=35).

Спустя 20 недель у животных под этиминаловым наркозом (30 мг/кг) забирали бронхоальвеолярные смывы (БАС) посредством трехкратного лаважа бронхоальвеолярного дерева 0,9% раствором NaCl. В смывах исследовали содержание фосфолипидов, их фракционный состав [6]. Поверхностную активность сурфактанта лёгких изучали путём измерения статического, минимального и максимального поверхностного натяжения (ПН) БАС по методу Ленгмюра-Вильгельми [7]. В тефлоновой кювете с подвижным барьером после 30-минутной экспозиции регистрировали статическое ПН смывов, при уменьшении площади поверхностной пленки смывов до 20% – минимальное ПН, при растяжении до 100% – максимальное ПН. Из кле-

точной взвеси, полученной после центрифугирования БАС, готовили мазки методом окраски по Романовскому-Гимзе, в которых подсчитывали эндопульмональную цитограмму (микроскоп ЛОМО, иммерсионный объектив 90x). Оценивали функциональную активность клеточных факторов врожденного иммунитета лёгких путём подсчёта фагоцитарного индекса (ФИ) – процент фагоцитирующих клеток, и фагоцитарного числа (ФЧ) – среднее число объектов фагоцитоза (дрожжей), поглощенное одной клеткой спустя 30 и 60 минут инкубации. При сопоставлении фагоцитарного числа 30-минутной и 120-минутной инкубации подсчитывали индекс завершенности фагоцитоза (ИЗФ) = ФЧ 30/ФЧ 120. В эти же сроки изучали содержание NO [8] в артериальной (арт) и венозной (вен) крови, взятой из левого и правого желудочков сердца крысы, соответственно. На гемокоагулометре CGL2110 (Solar, Беларусь) оценивали активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) (АЧТВ-тест, диагностикум НПО «Ренам», Москва) и протромбиновое время (ПВ) (Тромбопластин, Диагем-П, диагностикум НПО «Ренам», Москва) в артериальной и венозной крови. По массе влажных и высушенных легких, а также по уровню гемоглобина в крови и гемогенате легочной ткани, определяемых гемоглобинцианидным методом (Био-Ла-Тест, Erba Lachema, Чехия), рассчитывали количество общей, экстра- и интраваскулярной жидкости и кровенаполнение легких [9].

Обработка статистических данных выполнена на основе пакета прикладных компьютерных программ Microsoft Excel 2010 и SPSS 22. Проверку гипотезы о нормальности распределения исходных данных осуществляли с помощью критерия Шапиро-Уилка. После подтверждения нормальности распределения уровень статистической значимости различий изучаемых параметров между группами оценивали с помощью критерия Стьюдента. Данные представлены в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего арифметического ($M \pm m$). Для изучения наличия или отсутствия корреляционной связи использовали коэффициент Пирсона (r_p).

Результаты исследования и их обсуждение

В ходе проведённых исследований было выявлено, что длительный приём этанола вызывал снижение общего количества фосфолипидов сурфактанта, тогда как сочетание алкоголизма с ЧМТ сопровождалось их уменьшением (табл. 1). При этом сравнительное изучение фосфолипидного спектра альвеолярных фосфолипидов при алкоголизме и сочетании алкоголизма и ЧМТ показало ряд однонаправленных изменений фракций сурфактанта: уменьшалось количество фосфатидилхолина и возрастал уровень лизофосфатидил-

холина, данные изменения вызывали ухудшение поверхностной активности лёгких, что отражалось в повышении статического, минимального и максимального поверхностного натяжения БАС (табл. 1). С результатами нашей работы согласуются литературные данные о роли данных фракций фосфолипидов сурфактанта в создании поверхностного натяжения лёгких. В частности, продемонстрировано, что фосфатидилхолин составляет до 70-80% от общего количества фосфолипидов сурфактанта и определяет его активное поверхностное действие [10]. Лизофосфатидилхолин, напротив, обладает детергентным действием на сурфактантный выстилающий комплекс и ухудшает его поверхностную активность [10].

Было выявлено, что сочетание алкоголизма и ЧМТ увеличивало количество фосфатидной кислоты, в то время как алкоголизм не влиял на её содержание (табл. 1). Помимо этого наблюдались сильные положительные корреляционные связи между уровнем фосфатидной кислоты и общими фосфолипидами в контроле ($r_p=0,721$; $p<0,01$) и во 2 группе ($r_p=0,711$; $p<0,01$). Учитывая изложенное выше, а также литературные данные о том, что фосфатидная кислота играет центральную роль в метаболизме фосфолипидов сурфактанта и является основным источником их синтеза [10], можно предположить, что увеличение общих фосфолипидов сурфактанта при сочетании алкоголизма и ЧМТ могло быть связано с повышением этой фракции.

К настоящему времени продемонстрировано регулирующее влияние эндотелия лёгких на коагуляционный потенциал крови посредством синтеза факторов свёртывающей и противосвёртывающей систем, которое проявляется гипокоагуляционной направленностью артериальной крови по сравнению с венозной [11]. Вместе с тем установлено изменение гипокоагуляционной активности эндотелия малого круга кровообращения при сосудистом поражении головного мозга [12], поэтому нам представлялось интересным рассмотреть изменение данной функции лёгких при алкоголизме и его сочетании с ЧМТ. В опытах у контрольных животных было выявлено удлинение тромбoplastинового и протромбинового времени крови «после лёгких» в отличие от аналогичных параметров крови «до лёгких» (табл. 1). Длительный приём этанола устранял разницу между коагуляционными показателями (АЧТВ, ПВ) артериальной и венозной крови (табл. 1). При этом у животных с алкоголизмом коэффициенты АЧТВ арт/вен и ПВ арт/вен понижались по сравнению с контрольными величинами и имели значения, близкие к 1 (табл. 1), что могло свидетельствовать об отсутствии влияния эндотелия лёгких на коагуляционный потенциал артериальной крови.

Интересно отметить, что изучаемые показатели коагуляционного гемостаза при сочетании этаноловой интоксикации и ЧМТ не имели отличий от контрольных величин (табл. 1).

Изучение факторов врожденного иммунитета лёг-

ких выявило изменение клеточного состава БАС: как в первой, так и во второй сериях исследования уменьшалась доля лимфоцитов и повышалось содержание макрофагов и нейтрофилов (табл. 1). Длительный приём этанола вызывал уменьшение числа альвеолярных макрофагов, участвующих в фагоцитозе как при 30 минутах инкубации ($23,10\pm 1,36$ против $32,24\pm 2,05\%$ в контроле, $p<0,01$), так и при 120 минутах инкубации ($45,30\pm 1,63$ вместо $65,52\pm 2,25\%$ в контрольной группе, $p<0,01$). Одновременно наблюдалось снижение поглощения клетками чужеродных объектов при 30 минутах (до $0,90\pm 0,10$ против $1,80\pm 0,05$ усл. ед. у интактных животных, $p<0,01$) и при 120 минутах инкубации (до $1,20\pm 0,09$ вместо $1,56\pm 0,06$ усл. ед. в контроле, $p<0,01$). Индекс завершенности процессов фагоцитоза был равен $0,95\pm 0,02$ усл. ед. у животных с алкоголизмом, что отражало его несостоятельность, против $1,19\pm 0,02$ усл. ед. в контрольных величинах ($p<0,01$).

Известно, что этанол способствует развитию оксидативного стресса в лёгких, который характеризуется усилением активности НАДФ-оксидаз, а также снижением Nrf2-сигнализации в альвеолярных макрофагах, сопровождающейся низкой экспрессией генов, участвующих в восстановлении окислительно-восстановительного потенциала клеток [13].

Стоит отметить, что в наших экспериментах степень снижения функциональной активности альвеолярных макрофагов возрастала в условиях дополнительного травматического воздействия: фагоцитарный индекс, фагоцитарное число и индекс завершенности фагоцитоза были ниже как контрольных величин, так и показателей при алкоголизме (рис.). Полученные результаты согласуются с данными клинических исследований, показавших увеличение числа пневмоний у пациентов с травмами мозга при хроническом употреблении алкоголя [14].

Исследование водного баланса показало, что длительный приём этанола сопровождался гипергидратацией лёгких за счёт увеличения количества общей и экстраваскулярной жидкости органа (табл. 2).

Можно предположить, что приём этанола увеличивает проницаемость альвеолярного эпителия, что предрасполагает к развитию лёгочного отёка. Так, было обнаружено пятикратное повышение количества радиоактивно-меченого альбумина в просвете воздухоносных путей при длительной этаноловой интоксикации у крыс [15]. Сочетание этаноловой интоксикации и ЧМТ усиливало степень гидратации лёгочной ткани, выявленной при длительном приёме этанола, что не исключает вовлечение центральных дигрегуляторных влияний, способствующих усилению отёка лёгких. По мнению J. Finsterer (2019) развитие нейрогенного отёка лёгких при повреждении мозга является закономерным явлением [16]. В частности, было обнаружено повышение общей жидкости лёгких при сосудистом поражении головного мозга [17]. Несмотря на однотипные изменения водного баланса, ал-

коголизм вызывал повышение кровенаполнения лёгких в условиях высокого уровня NO артериальной и венозной крови, в то время как сочетание приёма этанола и ЧМТ характеризовалось лёгочной гипоперфузией на

фоне низкого содержания NO в артериальном и системном кровотоке (табл. 2). При этом соотношение NO арт/вен было снижено по сравнению с контролем в обеих сериях исследования.

Таблица 1
Нереспираторные функции лёгких при алкоголизме и сочетании алкоголизма и ЧМТ (M±m)

Показатели		Контроль (n=35)	Длительный приём этанола (n=40)	Сочетание приёма этанола с ЧМТ (n=32)
Фосфолипиды, мкмоль/г, в том числе:		49,50±5,72	30,27±2,69**	68,11±4,45*##
фосфатидилхолин		33,59±4,13	14,83±2,50***	19,07±0,44**
лизосфатидилхолин		1,60±0,30	3,66±0,21**	9,69±2,63*##
сфингомиелин		3,59±0,59	2,03±0,22*	5,06±0,42*##
фосфатидилсерин		2,59±0,37	1,24±0,12**	3,20±0,29*##
фосфатидилэтаноламин		4,41±0,55	6,27±0,27**	11,72±0,53*##
фосфатидная кислота		2,04±0,36	1,76±0,27	14,40±0,56*##
фосфатидилинозитол		1,95±0,47	0,61±0,15*	2,67±0,25*##
Фосфатидилхолин/Лизосфатидилхолин, усл. ед.		21,39±0,57	4,22±0,33***	2,08±0,18*##
Поверхностное натяжение, мН/м	статическое	29,83±0,16	35,61±0,28***	34,75±0,68***
	минимальное	18,92±0,15	24,55±0,18***	23,97±0,74***
	максимальное	39,71±0,24	45,64±0,37***	43,97±0,96***
Клеточный состав БАС, %	макрофаги	56,80±2,50	71,20±1,40***	72,07±3,07***
	лимфоциты	41,20±2,55	24,80±1,20***	24,13±1,53***
	нейтрофилы	2,00±0,05	4,00 ±0,13***	3,80±0,24***
АЧТВ, с	арт. крови	35,20±0,70	34,20±0,33	33,93±0,90
	вен. крови	27,96±0,51^^^	36,33±0,50***	25,60±1,18^^^##
АЧТВ арт/вен, усл. ед.		1,28±0,4	0,95±0,02***	1,33±0,09##
ПВ, с	арт. крови	21,16±0,50	23,60±0,41***	19,73±0,90##
	вен. крови	15,68±0,40^^^	22,67±0,43***	15,07±0,32^^^##
ПВ арт/вен, усл. ед.		1,38±0,05	1,05±0,02***	1,32±0,07##

Примечание: * – статистически значимые отличия от контроля; # – статистически значимые отличия между экспериментальными группами; ^ – статистически значимые отличия между артериальной и венозной кровью; здесь и далее в рисунке и таблице: один знак – p<0,05, два знака – p<0,01, три знака – p<0,001.

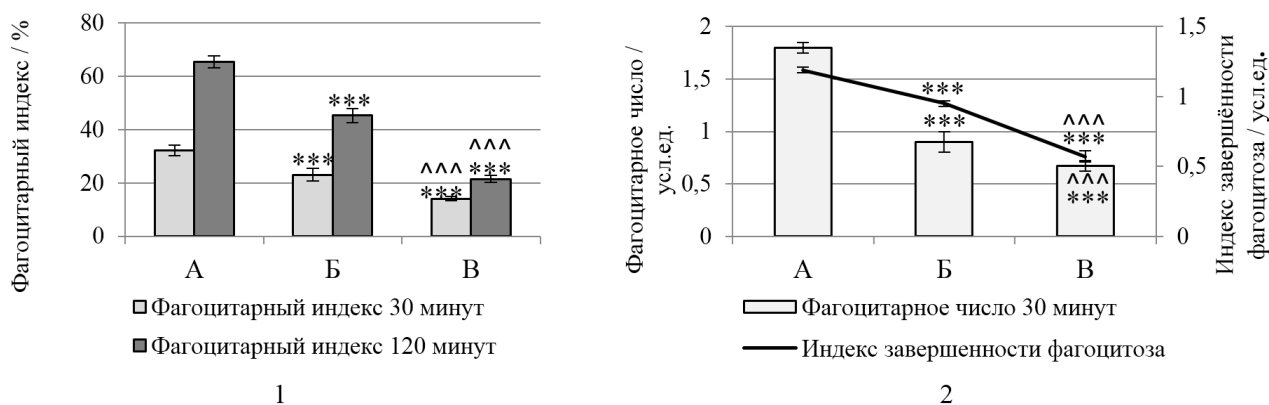


Рис. Показатели функциональной активности альвеолярных макрофагов при алкоголизме и его сочетании с ЧМТ; 1) – фагоцитарный индекс; 2) – фагоцитарное число и индекс завершенности фагоцитоза. А – контроль; Б – алкоголизм; В – сочетание алкоголизма с ЧМТ. * – статистически значимые отличия от контроля; ^ – статистически значимые отличия между экспериментальными группами.

Таблица 2

Водный баланс лёгких и NO крови при алкоголизме и сочетании алкоголизма и ЧМТ (M±m)

Показатели		Контроль (n=35)	Длительный приём этаноло (n=40)	Сочетание приёма этаноло с ЧМТ (n=32)
NO, мкмоль/л	арт. крови	48,30±1,29	62,90±1,62***	27,37±0,61***##
	вен. крови	32,40 ±1,30	56,80±0,97***	23,40±0,39***##
NO арт/вен, усл. ед.		1,51±0,09	1,18±0,03**	1,17±0,04**
ОЖЛ, % к т сердца		103,23±4,01	139,66±4,74***	161,10±5,52***##
ЭЖЛ, % к т сердца		93,44±3,90	121,34±4,71***	155,56±4,71***##
Кровенаполнение, % к т сердца		11,66±0,42	18,51±1,50***	7,02±0,51***##

Примечание: * – статистически значимые отличия от контроля; # – статистически значимые отличия между экспериментальными группами.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о том, что алкоголизм и сочетание приёма этанола с ЧМТ вызывают нарушение фосфолипидного состава и функциональных свойств сурфактанта. При этом алкоголизм сопровождается снижением гемостаз-регулирующей активности лёгких. ЧМТ усиливает нарушения водного баланса и врожденного иммунитета лёгких, выявленные при алкоголизме.

Конфликт интересов

Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Conflict of interest

The author declares no conflict of interest

Источники финансирования

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

- Iranpour A., Nakhaee N. A Review of Alcohol-Related Harms: A Recent Update // Addict. Health. 2019. Vol.11, №2. P.129–137. doi: 10.22122/ahj.v11i2.225
- Wood C., Kataria V., Modrykamien A. M. The acute respiratory distress syndrome // Proc. (Bay. Univ. Med. Cent.). 2020. Vol.33, №3. P.357–365. doi: 10.1080/08998280.2020.1764817
- Albrecht J.S., Afshar M., Stein D.M., Smith G.S. Association of Alcohol with Mortality after Traumatic Brain Injury // Am. J. Epidemiol. 2018. Vol.187, №2. P.233–241. doi: 10.1093/aje/kwx254
- Nunes P.T., Vedder L.C., Deak T., Savage L.M. A Pivotal Role for Thiamine Deficiency in the Expression of Neuroinflammation Markers in Models of Alcohol-Related Brain Damage // Alcohol. Clin. Exp. Res. 2019. Vol.43, №3. P.425–438. doi: 10.1111/acer.13946
- Kim H.J., Han S.J. A simple rat model of mild traumatic brain injury: a device to reproduce anatomical and neurological changes of mild traumatic brain injury // PeerJ. 2017. Vol.5. e2818. doi: 10.7717/peerj.2818
- Ishikawa M., Maekawa K., Saito K., Senoo Y., Urata M., Murayama M., Tajima Y., Kumagai Y., Saito Y. Plasma and Serum Lipidomics of Healthy White Adults Shows Characteristic Profiles by Subjects' Gender and Age // PLoS One. 2014. Vol.9, №3. e91806. doi: 10.1371/journal.pone.0091806
- Chen Z., Zhong M., Luo Y., Deng L., Hu Z., Song Y. Determination of rheology and surface tension of airway surface liquid: a review of clinical relevance and measurement techniques // Respir. Res. 2019. Vol.20, №1. Article number: 274. doi: 10.1186/s12931-019-1229-1
- Метельская В.А., Гуманова Н.Г. Оксид азота: роль в регуляции биологических функций, методы определения в крови человека. Лабораторная медицина. 2005. №7. С.19–21.
- Уракова М.А., Брындина И.Г. Водный баланс лёгких и оксид азота крови при экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите в условиях капсаициновой блокады блуждающего нерва // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2016. Т.60, №3. С.18–22.
- Bernhard W. Lung surfactant: Function and composition in the context of development and respiratory physiology // Ann. Anat. 2016. Vol.208. P.146–150. doi: 10.1016/j.aanat.2016.08.003
- Przysinda A., Feng W., Li G. Diversity of Organism-Wide and Organ-Specific Endothelial Cells // Curr. Cardiol. Rep. 2020. Vol.22, №4. Article number: 19. doi: 10.1007/s11886-020-1275-9
- Уракова М.А. Изменение коагуляционной активности лёгких при внутрижелудочковом кровоизлиянии и ишемии головного мозга// Гематология и трансфузиология. 2014. Т.59, №1-1S. С.125.
- Yeligar S.M., Chen M.M., Kovacs E. J., Sisson J.H., Burnham E.L., Brown L.A.S. Alcohol and Lung Injury and Immunity // Alcohol. 2016. Vol.55. P.51–59. doi: 10.1016/j.alcohol. 2016.08.005

14. Jurkovich G.J., Rivara F.P., Gurney J.G., Fligner C., Ries R., Mueller B.A., Copass M. The effect of acute alcohol intoxication and chronic alcohol abuse on outcome from trauma // *JAMA*. 1993. Vol.270, №1. P.51–56.
15. Guidot D.M., Modelska K., Lois M., Jain L., Moss I.M., Pittet J. F., Brown L.A. Ethanol ingestion via glutathione depletion impairs alveolar epithelial barrier function in rats // *Am. J. Physiol.* 2000. Vol.279, №1. P.127–135. doi: 10.1152/ajplung.2000.279.1.L127
16. Finsterer J. Neurological Perspectives of Neurogenic Pulmonary Edema // *Eur. Neurol.* 2019. Vol.81, №(1-2). P.94–102. doi: 10.1159/000500139
17. Urakova M.A., Bryndina I.G. Surfactant in the water balance of the lungs after intracerebral hemorrhage in conditions of capsaicin blockade of the vagus nerve// *Neuroscience and Behavioral Physiology*. 2016. Vol.46, №6. P.639–643.

REFERENCES

1. Iranpour A., Nakhaee N. A Review of Alcohol-Related Harms: A Recent Update. *Addict. Health*. 2019; 11(2):129–137. doi: 10.22122/ahj.v11i2.225
2. Wood C., Kataria V., Modrykamien A.M. The acute respiratory distress syndrome. *Proc. (Bay. Univ. Med. Cent.)* 2020; 33(3):357–365. doi: 10.1080/08998280.2020.1764817
3. Albrecht J. S., Afshar M., Stein D. M., Smith G.S. Association of Alcohol with Mortality after Traumatic Brain Injury. *Am. J. Epidemiol.* 2018; 187(2): 233–241. doi: 10.1093/aje/kwx254
4. Nunes P.T., Vedder L.C., Deak T., Savage L.M. A Pivotal Role for Thiamine Deficiency in the Expression of Neuroinflammation Markers in Models of Alcohol-Related Brain Damage. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2019; 43(3):425–438.
5. Kim H.J., Han S.J. A simple rat model of mild traumatic brain injury: a device to reproduce anatomical and neurological changes of mild traumatic brain injury. *PeerJ* 2017; 5:e2818. doi: 10.7717/peerj.2818
6. Ishikawa M., Maekawa K., Saito K., Senoo Y., Urata M., Murayama M., Tajima Y., Kumagai Y., Saito Y. Plasma and Serum Lipidomics of Healthy White Adults Shows Characteristic Profiles by Subjects' Gender and Age. *PLoS One* 2014; 9(3):e91806. doi: 10.1371/journal.pone.0091806
7. Chen Z., Zhong M., Luo Y., Deng L., Hu Z., Song Y. Determination of rheology and surface tension of airway surface liquid: a review of clinical relevance and measurement techniques. *Respir. Res.* 2019; 20(1):274.
8. Metel'skaya V.A., Gumanova N.G. Nitric oxide: role in the regulation of biological functions, methods of determination in human blood. *Laboratornaya meditsina* 2005; (7):19–21 (in Russian).
9. Urakova M.A., Bryndina I.G. Water balance of lung and nitrogen oxide in blood at experimental autoimmune encephalomyelitis after capsaicin blockade of vagus nerve. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya* 2016; 60(3):18–22 (in Russian).
10. Bernhard W. Lung surfactant: Function and composition in the context of development and respiratory physiology. *Ann. Anat.* 2016; 208:146–150. doi: 10.1016/j.aanat.2016.08.003
11. Przysinda A., Feng W., Li G. Diversity of Organism-Wide and Organ-Specific Endothelial Cells. *Curr. Cardiol. Rep.* 2020; 22(4):19. doi: 10.1007/s11886-020-1275-9
12. Urakova M.A. Changes in the coagulation activity of the lungs with intraventricular hemorrhage and cerebral ischemia. *Gematologiya i transfuziologiya* 2014; 59(1-1S):125 (in Russian).
13. Yeligar S.M., Chen M.M., Kovacs E. J., Sisson J.H., Burnham E.L., Brown L.A.S. Alcohol and Lung Injury and Immunity. *Alcohol* 2016; 55:51–59. doi: 10.1016/j.alcohol. 2016.08.005
14. Jurkovich G.J., Rivara F.P., Gurney J.G., Fligner C., Ries R., Mueller B.A., Copass M. The effect of acute alcohol intoxication and chronic alcohol abuse on outcome from trauma. *JAMA* 1993; 270(1):51–56.
15. Guidot D.M., Modelska K., Lois M., Jain L., Moss I.M., Pittet J.F., Brown L.A. Ethanol ingestion via glutathione depletion impairs alveolar epithelial barrier function in rats. *Am. J. Physiol.* 2000; 279(1):127–135.
16. Finsterer J. Neurological Perspectives of Neurogenic Pulmonary Edema. *Eur. Neurol.* 2019; 81(1-2):94–102.
17. Urakova M.A., Bryndina I.G. Surfactant in the water balance of the lungs after intracerebral hemorrhage in conditions of capsaicin blockade of the vagus nerve. *Neuroscience and Behavioral Physiology* 2016; 46(6):639–643.

Информация об авторе:

Мария Анатольевна Уракова, канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры патофизиологии и иммунологии, Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации; e-mail: urakova-mariya@yandex.ru

Author information:

Maria A. Urakova, MD, PhD (Med.), Associate Professor, Department of Pathological Physiology and Immunology, Izhevsk State Medical Academy; e-mail: urakova-mariya@yandex.ru

Поступила 19.10.2020
Принята к печати 10.11.2020

Received October 19, 2020
Accepted November 10, 2020

УДК 618.3-06:612.017.1]578.825.12:616-036.65

DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-110-115

СОСТОЯНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У ЖЕНЩИН С ОБОСТРЕНИЕМ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В ТРЕТЬЕМ ТРИМЕСТРЕ БЕРЕМЕННОСТИ

И.Н.Гориков

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

РЕЗЮМЕ. Цель. Изучить состояние иммунной системы у женщин с обострением цитомегаловирусной инфекции (ЦМВИ) в третьем триместре беременности. **Материалы и методы.** Проводилось обследование 120 женщин в третьем триместре беременности, неосложненной и осложненной ЦМВИ. Первая группа была представлена 30 серонегативными женщинами с физиологической беременностью, вторая – 30 беременными с латентной ЦМВИ, приводящей к развитию плацентарной недостаточности, третья – 30 пациентками с обострением ЦМВИ и плацентарной недостаточностью и четвертая – 30 женщинами с обострением ЦМВИ, инициирующим развитие плацентарной недостаточности и угрозы невынашивания. Изучалось содержание в сыворотке крови иммуноглобулинов (sIgA, IgA, IgG и IgM) и циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК). **Результаты.** Показано, что у женщин первой группы концентрация sIgA в сыворотке крови составляла 5,0 (4,10-7,10) мг/мл, IgA – 2,32 (2,09-2,48) мг/мл, IgG – 13,8 (13,0-14,4) мг/мл, IgM – 1,08 (0,98-1,19) мг/мл и ЦИК – 0,097 (0,076-0,113) ед. опт. пл. Во второй группе по сравнению с первой возрастало содержание IgG до 14,3 (13,3-15,3) мг/мл ($p=0,0284$), то же время не отмечалось статистически значимых изменений уровня sIgA ($p=0,697$), IgA ($p=0,085$), IgM ($p=0,197$) и ЦИК ($p=0,476$). В третьей группе в отличие от второй регистрировалось увеличение концентрации IgG в 1,09 раза ($p=0,0016$), IgM – в 1,88 раза ($p=0,000001$) и ЦИК – в 1,70 раза ($p=0,000001$) на фоне падения уровня IgA в 1,24 раза ($p=0,000001$) и отсутствия различия содержания sIgA ($p=0,208$). У пациенток четвертой группы в сопоставлении с третьей диагностировалось снижение уровня sIgA в 1,66 раза ($p=0,0000089$) и IgA – в 1,41 раза ($p=0,00048$) при росте IgG в 1,26 раза ($p=0,000001$), IgM – в 1,21 раза ($p=0,0011$) и ЦИК – в 1,09 раза ($p=0,0199$). **Заключение.** При обострении ЦМВИ в третьем триместре беременности, осложненной плацентарной недостаточностью, выраженная дисиммуноглобулинемия и аутоиммунная перестройка женского организма приводит к развитию симптомов угрозы невынашивания.

Ключевые слова: гуморальный иммунитет, циркулирующие иммунные комплексы, цитомегаловирусная инфекция, беременность, угроза невынашивания.

STATE OF THE IMMUNE SYSTEM IN WOMEN WITH EXACERBATION OF CYTOMEGALOVIRUS INFECTION IN THE THIRD TRIMESTER OF PREGNANCY

I.N.Gorikov

Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

SUMMARY. Aim. To study the state of the immune system in women with exacerbation of cytomegalovirus infection (CMVI) in the third trimester of pregnancy. **Materials and methods.** The study involved 120 women in the third trimester of pregnancy, uncomplicated and complicated by CMVI. The first group was represented by 30 seronegative women with physiological pregnancy, the second – 30 pregnant women with latent CMVI, leading to the development of placental in-

Контактная информация

Игорь Николаевич Гориков, канд. мед. наук, старший научный сотрудник, лаборатория механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22. E-mail: dcfpd@dcfpd.ru

Correspondence should be addressed to

Igor' N. Gorikov, MD, PhD (Med.), Senior Staff Scientist, Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation. E-mail: dncfpd@dncfpd.ru

Для цитирования:

Гориков И.Н. Состояние иммунной системы у женщин с обострением цитомегаловирусной инфекции в третьем триместре беременности // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2020. Вып.78. С.110–115. DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-110-115

For citation:

Gorikov I.N. State of the immune system in women with exacerbation of cytomegalovirus infection in the third trimester of pregnancy. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2020; (78):110–115 (in Russian). DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-110-115

sufficiency, the third – 30 patients with exacerbation of CMVI and placental insufficiency, and the fourth – 30 women with exacerbation of CMVI, initiating the development of placental insufficiency and the threat of miscarriage. The concentration of immunoglobulins (sIgA, IgA, IgG and IgM) and circulating immune complexes (CIC) in blood serum was studied. **Results.** It was shown that in women of the first group the concentration of sIgA in the blood serum was 5.0 (4.10-7.10) mg/ml, IgA – 2.32 (2.09-2.48) mg/ml, IgG – 13.8 (13.0-14.4) mg/ml, IgM – 1.08 (0.98-1.19) mg/ml and CIC – 0.097 (0.076-0.113) AU. In the second group, compared with the first one, the IgG concentration increased to 14.3 (13.3-15.3) mg/ml ($p=0.0284$), at the same time there were no statistically significant changes in the sIgA level ($p=0.697$), IgA ($p=0.085$), IgM ($p=0.197$) and CIC ($p=0.476$). In the third group, in contrast to the second one, an increase in IgG concentration was recorded by 1.09 times ($p=0.0016$), IgM – by 1.88 times ($p=0.000001$) and CIC – by 1.70 times ($p=0.000001$) against the background of a 1.24-times decrease in IgA levels ($p=0.000001$) and no difference in sIgA concentration ($p=0.208$). In patients of the fourth group, in comparison with the third one, a decrease in the level of sIgA was diagnosed by 1.66 times ($p=0.0000089$) and IgA – by 1.41 times ($p=0.00048$) with an increase in IgG by 1.26 times ($p=0.000001$), IgM – 1.21 times ($p=0.0011$) and CIC – 1.09 times ($p=0.0199$). **Conclusion.** With exacerbation of CMVI in the third trimester of pregnancy, complicated by placental insufficiency, severe dysimmunoglobulinemia and autoimmune changes in the female body lead to the development of symptoms of the threat of miscarriage.

Key words: humoral immunity, circulating immune complexes, cytomegalovirus infection, pregnancy, threat of miscarriage.

Иммунная система участвует в защите беременной женщины от инфекта [1] с помощью местного гуморального иммунитета [2, 3], выработки антител [4] и образования циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) [5, 6].

Инфекционные заболевания у беременных часто сопровождаются нарушением синтеза основных классов неспецифических иммуноглобулинов [7], а также ростом содержания ЦИК [8]. Несмотря на их важную роль в иммунной защите беременных при развитии плацентарной дисфункции, до настоящего времени не показано значение гуморального иммунного ответа и аутоиммунных процессов при обострении цитомегаловирусной инфекции (ЦМВИ) в третьем триместре гестации, осложненном плацентарной недостаточностью, ассоциированной с угрожающими преждевременными родами.

Цель работы – изучить состояние иммунной системы у женщин с обострением ЦМВИ в третьем триместре беременности.

Материалы и методы исследования

Изучалось содержание в сыворотке крови иммуноглобулинов (sIgA, IgA, IgG и IgM) и ЦИК у 120 женщин на 31-34 неделях гестации с различным течением беременности. В первую группу были включены 30 серонегативных женщин с физиологической беременностью. Вторую группу составили 30 пациенток с латентным течением ЦМВИ и плацентарной недостаточностью. Третья группа была представлена 30 женщинами с обострением ЦМВИ, приводящем к формированию плацентарной недостаточности. В четвертую группу вошли 30 женщин с обострением ЦМВИ и плацентарной недостаточностью, сочетающейся с угрозой невынашивания.

Критерии включения: возраст обследованных женщин 18-30 лет; хроническая герпесвирусная инфекция в стадии стойкой ремиссии (вирус простого герпеса 1 и 2 типов); верифицированная латентная ЦМВИ у пациенток на 31-34 неделях беременности; отсутствие в

анамнезе у беременных генетических, эндокринных, аутоиммунных и анатомических причин невынашивания; обострение ЦМВИ на 31-34 неделях гестации без клинко-эхографических признаков угрозы невынашивания; обострение ЦМВИ с клинко-эхографически подтвержденной угрозой невынашивания (боли в области живота и пояснице, повышение тонуса матки, гипертонус миометрия и отсутствие расширения области внутреннего зева шейки матки); отсутствие у беременных острой респираторной вирусной инфекции, инфекций, передающихся половым путем, врожденных пороков развития, среднетяжелой и тяжелой соматической и акушерской патологии с нарушением функции органов и систем; получение у пациенток письменного согласия на проведение исследований.

Критерии исключения: первичная ЦМВИ и вирус простого герпеса 1 и 2 типов; возраст пациенток менее 18 и более 30 лет, с одноплодной, многоплодной или индуцированной беременностью, осложненной обострением ЦМВИ в третьем триместре гестации; беременные с генетическими, эндокринными, аутоиммунными и анатомическими причинами угрозы невынашивания; обострение ЦМВИ, которое сопровождается клинко-ультразвуковыми признаками угрозы невынашивания (болями в области живота и в пояснице, слизисто-кровянистыми выделениями из половых путей, повышением тонуса матки, эхографически диагностированным гипертонусом миометрия и расширением области внутреннего зева шейки матки); наличие у беременных симптомов острой респираторной вирусной инфекции, инфекционного гепатита, сифилиса и ВИЧ-инфекции, а также среднетяжелой и тяжелой соматической, акушерской патологии, эндокринных и иммуноассоциированных заболеваний; рубец на матке и аномалии её развития, врожденная патология у плода; отсутствие согласия беременных на проведение исследований.

Исследование содержания секреторного иммуноглобулина А (sIgA) (мг/мл) осуществлялось с помощью наборов реагентов «IgA секреторный-ИФА-БЕСТ»

(Новосибирск). При изучении концентрации в сыворотке крови основных классов иммуноглобулинов – IgA, IgM и IgG (мг/мл) использовались стандартные наборы реагентов «IgA общий-ИФА-БЕСТ», «IgM общий-ИФА-БЕСТ» и «IgG общий-ИФА-БЕСТ» (ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск). Исследование уровня ЦИК (ед. опт. пл.) проводилось по методу M.Digeon et al. [9].

Обнаружение ЦМВИ у беременных осуществлялась при выявлении у них типоспецифических антител класса М (IgM) к ЦМВ, индекса avidности антител IgG к ЦМВ более 65%, ДНК возбудителя в крови, моче, буккальном эпителии и эпителиоцитах цервикального канала.

Обследование женщин включало получение их согласия на проведение иммунологического анализа. Исследования проводились с соблюдением требований Хельсинкской Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта с поправками 2013 года, Правилами надлежащей клинической практики в Российской Федерации, утвержденными Приказом Минздрава РФ №200н от 1 апреля 2016 года. Работа была одобрена комитетом по биомедицинской этике при Дальневосточном научном центре физиологии и патологии дыхания.

При статистической обработке данных использовали пакет программ Statistica 10.0. Оценка достоверности различия значений сравниваемых параметров между разными выборками проводилась на основе U-критерия Манна-Уитни (M_e – медиана; Q_1 – верхний квартиль; Q_3 – нижний квартиль). Различия считались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Во второй группе в сопоставлении с первой (табл.) диагностировалась более высокая концентрация IgG и не обнаруживались статистически значимые различия содержания sIgA, IgA, и ЦИК. Повышение уровня IgG, по-видимому, указывало на стимулирующее влияние латентной ЦМВИ и герпесвирусной инфекции в стадии длительной ремиссии, приводящих к плацентарной недостаточности, на неспецифический гуморальный иммунитет.

У женщин третьей группы по сравнению со второй (табл.) наблюдалось статистически достоверное увеличение в сыворотке крови IgG в 1,09 раза, IgM – в 1,88 раза и ЦИК – в 1,70 раза, а также снижение IgA в 1,24 раза при отсутствии различия уровня sIgA. Наличие дисбаланса в спектре иммуноглобулинов указывало на нарушение гуморального иммунитета у женщин с обострением ЦМВИ, инициирующем развитие плацентарной недостаточности.

Особенностями гуморального иммунитета у пациенток четвертой группы в сопоставлении с третьей (табл.) являлся статистически достоверный рост содержания IgG в 1,26 раза, IgM – в 1,21 раза и ЦИК – в 1,09

раза, а также снижение уровня sIgA – 1,70 раза и IgA – в 1,41 раза.

Более низкие показатели sIgA и IgA в сыворотке крови у пациенток с обострением ЦМВИ позволяют утверждать об их участии в патогенезе плацентарной недостаточности, ассоциированной с угрозой невынашивания.

Как известно, sIgA контактирует с вирусами на наружной части цитолеммы эпителия слизистой оболочки, что блокирует их проникновение в системный кровоток. В процессе переноса через эпителиальный пласт IgA способен нейтрализовать находящиеся в цитоплазме вирусы, связывать и транспортировать на наружную поверхность эпителиоцитов молекулы белка и антигена [2].

В то же время обнаруживалась более высокая концентрация IgG, которая повышает риск развития аутоиммунных нарушений, а также уровня IgM, подтверждающего ответную реакцию беременных на антигенную стимуляцию возбудителем инфекции.

Каждый из иммуноглобулинов выполняет определенную функцию. Так, IgA участвует в активации комплемента по альтернативному пути, обеспечивает нейтрализацию токсинов, локализацию вирусов и активацию процесса фагоцитоза.

Известно, что IgM принимает участие в опсонизации возбудителя инфекции, усиливает процесс фагоцитоза, а также формирование иммунных комплексов. IgG, составляющий 80% всех классов иммуноглобулинов периферической крови, вносит вклад в противoinфекционную защиту посредством его участия в нейтрализации цитодеструктивных свойств вирусов, стимуляции агглютинации и преципитации возбудителей инфекции, инактивации токсинов, обеспечивающих активацию макрофагальных клеточных элементов и фагоцитоза [10–12].

На развитие более выраженной дисиммуноглобулинемии у женщин с обострением ЦМВИ в третьем триместре гестации, осложненным плацентарной недостаточностью и угрозой невынашивания, может оказывать повышение концентрации кортизола [13], более высокий уровень которого обнаруживается, в частности, при реактивации герпесвирусной инфекции. Оптимальная концентрация кортизола стимулирует синтез иммуноглобулинов, участвуя в индуктивной фазе антителообразования, а максимальное содержание гормона угнетает процесс антителообразования в организме человека. В частности, избыточная стресс-реакция может приводить к подавлению синтеза sIgA [14] и может играть важную роль в дисбалансе гуморального иммунитета у беременных с плацентарной недостаточностью инфекционного генеза, ассоциированной с угрожающими преждевременными родами.

У беременных с обострением инфекционного заболевания, обусловленным возбудителями герпесвирусной группы, обнаруживается четко выраженная

зависимость между ростом титра антител к вирусу простого герпеса в периферической крови и содержанием ЦИК, которые могут откладываться на поверхности синцития ворсин хориона и эндотелиальной выстилки капилляров. Активация эндотелиоцитов, моноцитов, нейтрофилов и фибробластов способствует выделению биогенных аминов и цитокинов, а также

повышению проницаемости кровеносных сосудов и гематоплацентарного барьера [5]. В зоне отложения ЦИК при гистологическом исследовании чаще регистрируются: альтеративные процессы в строме ворсин хориона, дистрофические изменения синцития, повышение удельного объема фибриноида, участки кровоизлияния и тромбообразования [6, 8].

Таблица

Изменение иммунологических показателей на 31-34 неделях беременности у женщин в исследуемых группах Me (Q₁; Q₃)

Показатели	Исследуемые группы			
	Первая	Вторая	Третья	Четвертая
sIgA, мг/мл	5,0 (4,10-7,10)	4,95 (4,3-6,90) p ₁ =0,697	6,40 (4,2-8,30) p ₁ =0,102 p ₂ =0,208	3,85 (2,90-5,30) p ₁ =0,00354 p ₂ =0,00051 p ₃ =0,000089
IgA, мг/мл	2,32 (2,09-2,48)	2,24 (2,09-2,36) p ₁ =0,085	1,81 (1,34-2,07) p ₁ =0,000001; p ₂ =0,000001	1,28 (1,03-1,67) p ₁ =0,000001 p ₂ =0,000001 p ₃ =0,00048
IgG, мг/мл	13,8 (13,0-14,4)	14,3 (13,3-15,3) p ₁ =0,0284	15,7 (14,8-17,2) p ₁ =0,000001 p ₂ =0,0016	19,8 (17,8-20,8) p ₁ =0,000001 p ₂ =0,000001 p ₃ =0,000001
IgM, мг/мл	1,08 (0,98-1,19)	1,10 (1,03-1,33) p ₁ =0,197	2,07 (1,69-2,35) p ₁ =0,000001 p ₂ =0,000001	2,51 (1,97-2,74) p ₁ =0,000001 p ₂ =0,000001 p ₃ =0,0011
ЦИК, ед. опт. пл.	0,097 (0,076-0,113)	0,100 (0,089-0,108) p ₁ =0,476	0,170 (0,142-0,194) p ₁ =0,000001 p ₂ =0,000001	0,186 (0,175-0,215) p ₁ =0,000001 p ₂ =0,000001 p ₃ =0,0199

Примечание: p₁ – уровень статистической значимости различий по сравнению с первой группой; p₂ – по сравнению со второй группой; p₃ – по сравнению с третьей группой.

Рост содержания ЦИК часто указывает на более низкую активность моноцитарно-макрофагальной системы, клеточные элементы которой часто поражены вирусом, и на более высокий уровень противовирусных антител [15]. Обнаружение высокой концентрации ЦИК в третьем триместре гестации при обострении ЦМВИ, осложненном плацентарной недостаточностью и угрозой невынашивания, позволяет утверждать об их важном значении в патогенезе угрожающих преждевременных родов.

Выводы

1. У пациенток с латентной ЦМВИ в третьем три-

местре гестации, осложненном плацентарной недостаточностью, в сопоставлении со здоровыми серонегативными женщинами, в сыворотке крови отмечается более высокий уровень IgG. Изменение его концентрации рассматривается как ответная реакция на антигенную стимуляцию несколькими возбудителями, находящимися в неактивном состоянии.

2. При обострении ЦМВИ у женщин в третьем триместре беременности, осложненном плацентарной недостаточностью, в отличие от латентного течения заболевания у пациенток с плацентарной недостаточностью, наблюдается снижение уровня IgA на фоне

роста содержания IgG, IgM и ЦИК. Вышеуказанные изменения отражают реакцию беременных на антигенную стимуляцию возбудителем инфекции и подтверждают аутоиммунную перестройку в их организме.

3. У женщин с обострением ЦМВИ в третьем триместре гестации, осложненном плацентарной недостаточностью и развитием угрозы невынашивания, в отличие от пациенток с обострением инфекционного заболевания, приводящем к развитию плацентарной недостаточности, диагностируется более низкое содержание sIgA и IgA, а также высокая концентрация IgG, IgM и ЦИК. Это указывает на значение снижения местной иммунной защиты, неспецифического гумораль-

ного иммунитета и активации аутоиммунных процессов в инициации преждевременной родовой деятельности.

Конфликт интересов

Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Conflict of interest

The author declares no conflict of interest

Источники финансирования

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

1. Бодиенкова Г.М., Колесникова Л.И. Состояние иммунологической реактивности организма беременных женщин и их новорожденных, проживающих в Прибайкальском регионе // Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2004. Т.49, №3. С.55–57.
2. Климович В.Б., Самойлович М.П. Иммуноглобулин А (IgA) и его рецепторы // Медицинская иммунология. 2006. Т.8, №4. С.483–500. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2006-4-483-500>
3. Соловьева А.С., Луценко М.Т. Характеристика местного иммунитета на поверхности небных миндалин у беременных с герпес-вирусной инфекцией // Дальневосточный медицинский журнал. 2007. №3. С.22–23.
4. Плужникова Т.А., Михина Е.А., Давыдова Н.И., Шогирадзе Л.Д. Опыт применения иммуноглобулина для внутривенного введения у беременных с невынашиванием и хроническим эндометритом // Журнал акушерства и женских болезней. 2018. Т.67, №5. С.21–31. doi: 10.17816/JOWD67521-31
5. Соловьева А.С., Луценко М.Т. Циркулирующие иммунные комплексы беременных с герпес-вирусной инфекцией // Дальневосточный медицинский журнал. 2008. №1. С.54–56.
6. Зубжицкая Л.Б., Кошелева Н.Г., Шаповалова Е.А., Аржанова О.Н., Дымарская Ю.Р., Лаврова О.В., Семенова Т.В., Столпнер Э.Г. Особенности состояния плацентарного барьера женщин при влиянии экзогенных и эндогенных факторов // Журнал акушерства и женских болезней. 2015. Т.64, №5. С.36–47.
7. Макаров О.В., Озолия Л.А., Сумеди Т.Н. Изменение показателей иммунитета у пациенток с невынашиванием беременности инфекционного генеза в I триместре // Российский вестник акушера-гинеколога. 2008. Т.8, №6. С.28–32.
8. Шаповалова Е.А., Зубжицкая Л.Б., Лаврова О.В., Аржанова О.Н., Дымарская Ю.Р. Особенности течения беременности при бронхиальной астме и влиянии иммунологических депозитов на плацентарный барьер // Журнал акушерства и женских болезней. 2015. Т.64, №2. С.69–75.
9. Digeon M., Laver M., Riza J., Bach J.F. Detection of circulation immune complexes in human sera by simplified assays with polyethylene glycol // J. Immunol. Methods. 1977. Vol.16, №2. P.165–183. doi: 10.1016/0022-1759(77)90051-5
10. Долгих В.Т. Основы иммунопатологии. Н.Новгород: Изд-во НГМА, 1998. 208 с.
11. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2003. 604 с.
12. Долгушина Н.В., Макацария А.Д. Вирусные инфекции у беременных. Руководство для врачей. М.: Триад-Х, 2004. 144 с.
13. Луценко М.Т. Динамика активности кортизола в периферической крови беременных, перенесших герпес-вирусную инфекцию // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2010. Вып.38. С.51–54.
14. Хаустова С.А., Шкурников М.Ю., Тоневицкий А.Г. Кратковременные нагрузки высокой интенсивности вызывают изменение концентрации кортизола и секреторного IgA в слюне // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2010. Т.149, №5. С.569–573.
15. Алимбарова Л.М., Соха Л.Г., Балева Л.С., Лаврухина Л.А., Баринский И.Ф. Оценка иммунного и интерферонового статусов детей, инфицированных вирусом простого герпеса, проживающих на территории с повышенным радиационным фоном // Вопросы вирусологии. 1997. Т.42, №1. С.36–41.

REFERENCES

1. Bodiynkova G.M., Kolesnikova L.I. The state of immunological reactivity of the body of pregnant women and their newborns living in the Baikal region. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii* 2004; 49(3):55–57 (in Russian).

2. Klimovich V.B., Samoilovich M.P. Immunoglobulin A (Ig A) and its receptors. *Medical Immunology (Russia)* 2006; 8(4):483–500 (in Russian). <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2006-4-483-500>
3. Solovieva A.S., Lutcenko M.T. Local immunity description at the palatine tonsil surface in herpes virus infected pregnant women. *Dal'nevostochnyy meditsinskiy zhurnal* 2007; 3:22–23 (in Russian).
4. Pluzhnikova T.A., Mikhina E.A., Davydova N.I., Shogiradze L.D. Experience with intravenous immunoglobulin treatment in pregnant women with miscarriage and chronic endometritis. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases* 2018; 67(5):21–31 (in Russian). doi: 10.17816/JOWD67521-31
5. Solovieva A.S., Lutcenko M.T. Circulating immune complexes in pregnant woman under herpes virus infection. *Dal'nevostochnyy meditsinskiy zhurnal* 2008; 1:54–56 (in Russian).
6. Zubhitzkaya L.B., Kosheleva N.G., Shapovalova E.A., Arzhanova O.N., Dymarskaya Y.R., Lavrova O.V., Semenova T.V., Stolpner E.G. Status of placental barrier of women at the influence of exogenous and endogenous factors. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney = Journal of Obstetrics and Women's Diseases* 2015; 64(5): 36–47 (in Russian). doi: 10.17816/JOWD64536-47
7. Makarov O.V., Ozolina L.A., Sumedi T.N. Immunological changes in patients with miscarriage of infectious genesis in the first trimester. *Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa = Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist* 2008; 8(6):28–32 (in Russian).
8. Shapovalova E.A., Zubhitzkaya L.B., Lavrova O.V., Arzhanova O.N., Dymarskaya Yu.R. Features of a course of pregnancy at bronchial asthma and influence of immunological deposits on a placental barrier. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney = Journal of Obstetrics and Women's Diseases* 2015; 64(2):69–75 (in Russian).
9. Digeon M., Laver M., Riza J., Bach J.F. Detection of circulation immune complexes in human sera by simplified assays with polyethylene glycol. *J. Immunol. Methods* 1977; 16(2):165–183. doi: 10.1016/0022-1759(77)90051-5
10. Dolgikh V.T. The basics of immunopathology. Nizhniy Novgorod: NGMA; 1998 (in Russian).
11. Drannik G.N. Clinical Immunology and Allergology. Moscow; 2003 (in Russian).
12. Dolgushina N.V., Makatsariya A.D. Viral infections in pregnant women. Moscow: Triada-X, 2004 (in Russian).
13. Lutsenko M.T. Dynamics of cortisol activity in peripheral blood of pregnant women who suffered herpes-virus infection. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2010; (38):51–54 (in Russian).
14. Khaustova S.A., Shkurnikov M.U., Tonevitsky A.G. Short highly intense exercise causes changes in salivary concentrations of hydrocortisone and secretory IgA. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2010; 149(5):635–639. doi: 10.1007/s10517-010-1012-2
15. Alimbarova L.M., Sokha L.G., Baleva L.S., Lavrukina L.A., Barinskii I.F. Evaluation of the immune and interferon statuses of children infected with herpes simplex virus, living in areas with increased radiation background. *Vopr. Virusol.* 1997; 42(1):36–41 (in Russian).

Информация об авторе:

Игорь Николаевич Гориков, канд. мед. наук, старший научный сотрудник, лаборатория механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: dcfpd@dcfpd.ru

Author information:

Igor' N. Gorikov, MD, PhD (Med.), Senior Staff Scientist, Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: dncfpd@dncfpd.ru

Поступила 10.07.2020
Принята к печати 24.07.2020

Received July 10, 2020
Accepted July 24, 2020

УДК 618.36-06(611-018.74+547.218.7):618.39]578.825.12:616-036.65

DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-116-121

**ПОКАЗАТЕЛИ СОСУДИСТО-ЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА И
ДОКОЗАГЕКСАЕНОВОЙ КИСЛОТЫ У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН С
УГРОЖАЮЩИМ ТЕЧЕНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ РАННИХ СРОКОВ,
АССОЦИИРОВАННЫМ С ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ**

Н.А.Ишутина, И.А.Андриевская, Н.Г.Приходько

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

РЕЗЮМЕ. Цель. Определить показатели сосудисто-эндотелиального фактора роста и докозагексаеновой кислоты у женщин с угрожающим течением беременности ранних сроков, ассоциированным с цитомегаловирусной инфекцией в стадии обострения. **Материалы и методы.** В исследование включены 74 женщины на сроке гестации 7-12 недель, из них 38 женщин с обострением цитомегаловирусной инфекции и начавшимся самопроизвольным выкидышем (основная группа) и 36 без таковой патологии (контрольная группа). Материалом для исследования служили периферическая кровь, моча и соскоб буккального эпителия. Антитела IgM и G к цитомегаловирусу, низкоavidные IgG (индекс avidности) определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа. ДНК цитомегаловируса выявляли методом ПЦР-анализа в режиме реал-тайм. Показатели сосудисто-эндотелиального фактора роста устанавливали методом иммуноферментного анализа. Содержание докозагексаеновой кислоты анализировали с помощью метода капиллярной газожидкостной хроматографии. **Результаты.** Концентрация сосудисто-эндотелиального фактора роста в сыворотке крови у беременных основной группы была в 1,7 раза ($p < 0,001$) ниже по сравнению с аналогичным показателем беременных контрольной группы. Аналогичная динамика изменений была установлена для докозагексаеновой кислоты, концентрация которой определялась ниже показателя контрольной группы в 1,4 раза ($p < 0,001$). **Заключение.** Полученные данные свидетельствуют, что обострение цитомегаловирусной инфекции на ранних сроках беременности ассоциировано со значимым уменьшением показателей сосудисто-эндотелиального фактора роста и докозагексаеновой кислоты, имеющим неблагоприятные эффекты на ангиогенез и развитие плаценты, исход беременности.

Ключевые слова: самопроизвольный выкидыш, цитомегаловирусная инфекция, сосудисто-эндотелиальный фактор роста, докозагексаеновая кислота.

**INDICATORS OF VASCULAR-ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR AND
DOCOSAHXAENOIC ACID IN PREGNANT WOMEN WITH THREATENING
COURSE OF EARLY PREGNANCY ASSOCIATED WITH CYTOMEGALOVIRUS**

N.A.Ishutina, I.A.Andrievskaya, N.G.Prikhodko

Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

SUMMARY. Aim. To determine the indices of vascular endothelial growth factor and docosahxaenoic acid in women with threatened early pregnancy associated with cytomegalovirus infection exacerbation. **Materials and methods.** The study included 74 women at a gestation period of 7-12 weeks, of which 38 women with exacerbation of cytomegalovirus

Контактная информация

Наталья Александровна Ишутина, д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22. E-mail: ishutina-na@mail.ru

Correspondence should be addressed to

Natalia A. Ishutina, PhD, D.Sc. (Biol.), Leading Staff Scientist, Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation. E-mail: ishutina-na@mail.ru

Для цитирования:

Ишутина Н.А., Андриевская И.А., Приходько Н.Г. Показатели сосудисто-эндотелиального фактора роста и докозагексаеновой кислоты у беременных женщин с угрожающим течением беременности ранних сроков, ассоциированным с цитомегаловирусной инфекцией // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2020. Вып.78. С.116–121. DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-116-121

For citation:

Ishutina N.A., Andrievskaya I.A., Prikhodko N.G. Indicators of vascular-endothelial growth factor and docosahxaenoic acid in pregnant women with threatening course of early pregnancy associated with cytomegalovirus. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2020; (78):116–121 (in Russian). DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-116-121

infection and the onset of spontaneous miscarriage (main group) and 36 without such pathology (control group). The material for the study was peripheral blood, urine, and scraping of the buccal epithelium. Antibodies IgM and G to cytomegalovirus, low avidity IgG (avidity index) were determined by enzyme-linked immunosorbent assay. Cytomegalovirus DNA was detected by real-time PCR analysis. Indicators of vascular endothelial growth factor were established by enzyme-linked immunoassay. The concentration of docosahexaenoic acid was analyzed using capillary gas-liquid chromatography. **Results.** The concentration of vascular endothelial growth factor in the blood serum in pregnant women in the main group was 1.7 times ($p < 0.001$) lower than in the control group. A similar dynamics of changes was established for docosahexaenoic acid, the concentration of which was 1.4 times lower than that of the control group ($p < 0.001$). **Conclusion.** The data obtained indicate that the exacerbation of cytomegalovirus infection in early pregnancy is associated with a significant decrease in vascular endothelial growth factor and docosahexaenoic acid, which has adverse effects on angiogenesis and growth of placenta, and pregnancy outcome.

Key words: spontaneous miscarriage, cytomegalovirus infection, vascular endothelial growth factor, docosahexaenoic acid.

Угрожающее течение беременности на ранних сроках представляет собой актуальную проблему современного акушерства, так как является полиэтиологическим состоянием, объединяющим различные нарушения, как в репродуктивной системе, так и в организме женщины в целом [1]. Нередко факт невынашивания связывают с инфекционным фактором, в частности, с цитомегаловирусной инфекцией (ЦМВИ) [2]. Угроза прерывания беременности существует у каждой четвертой женщины с обострением ЦМВИ [3, 4].

Рост и развитие плода зависят от функции плаценты и, главным образом, от плацентарного кровообращения. В свою очередь, правильное развитие плаценты определяется содружественным взаимодействием сосудистых факторов роста и их рецепторов [5–7]. К циркулирующим проангиогенным факторам роста, секретируемым плацентой, относят сосудисто-эндотелиальный фактор роста (VEGF-1), который во многом определяет процесс ангиогенеза плаценты и функциональную активность трофобласта [8].

Ангиогенез имеет решающее значение для успешной плацентации и дальнейшего развития беременности. Следовательно, факторы, его регулирующие, принимают непосредственное участие в ее развитии.

В последнее десятилетие активно изучают сосудистые факторы роста в контексте регуляции ангиогенеза и их роли в патологии беременности. Так, отечественными исследователями показано, что увеличение оксидативного стресса и дисбаланс между про- и антиангиогенными факторами, такими как VEGF-1 и растворимых рецепторов к VEGF-1 (Flt-1, KDL/Flk-2, FLT-4), могут играть определенную роль в развитии эндотелиальной дисфункции [5]. Таким образом, недостаточная продукция VEGF-1 может являться одной из причин самопроизвольного выкидыша, так как VEGF-1 служит важным фактором плацентации и инвазии трофобласта.

В настоящее время появились литературные данные о вовлечении в процесс ангиогенеза длинноцепочечных полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) ω -3 семейства и их метаболитов [9]. Так, зарубежные авторы отмечают, что для транспорта ПНЖК необходим VEGF-1, снижение концентрации которого умень-

шает доступность кислот для эндотелиальных клеток. Это приводит к снижению образования противовоспалительных и ангиогенных факторов: липоксинов, резолвинов, протеинов и марезинов из ПНЖК, которые подавляют синтез IL-6, TNF α , окислительный стресс, эндотелиальную дисфункцию, и увеличивают производство простаглицина и оксида азота (II) [10].

Известны работы, в которых показано, что ω -3 ПНЖК в условиях гипоксии активирует VEGF-1, способствующий ангиогенезу, путем активации мембранного рецептора GRP120 и ядерного рецептора PPAR γ , и, таким образом, улучшает локальное индуцированное гипоксией воспаление жировой ткани и резистентность к инсулину [11]. Вышеперечисленные факторы как изолировано, так и в сочетании друг с другом могут свидетельствовать о нарушении инвазии вневорсинчатого трофобласта и развития сосудистого русла плаценты.

Цель исследования – определить показатели VEGF-1 и докозагексаеновой кислоты (ДГК) у женщин с угрожающим течением беременности ранних сроков, ассоциированным с ЦМВИ в стадии обострения.

Материалы и методы исследования

В исследование включены 74 женщины на сроке гестации 7-12 недель, из них 38 женщин с обострением ЦМВИ и начавшимся самопроизвольным выкидышем (основная группа) и 36 без таковой патологии (контрольная группа). Средний возраст женщин основной группы был сопоставим с возрастом женщин контрольной группы и составил $23,9 \pm 0,5$ и $24,4 \pm 0,6$ года, соответственно ($p > 0,05$).

Критерием включения беременных в исследование явилось: информированное согласие женщины, лабораторно подтвержденное обострение хронической ЦМВИ на сроке 7-12 недель беременности, стойкая клиническая ремиссия герпесвирусной инфекции. Критерии исключения: первичная ЦМВИ, обострение других воспалительных заболеваний экстрагенитальной патологии, наличие инфекций, передающихся половым путем.

Клинический диагноз первичной ЦМВИ устанавливали по наличию в периферической крови антител IgM к ЦМВ, низкоавидных IgG (индекс авидности

<50%), а также ДНК ЦМВ, выявляемой методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в крови или моче; обострение хронической ЦМВИ – по наличию IgM к ЦМВ, высокоавидных IgG (индекс авидности >65%), а также ДНК ЦМВ в соскобах с буккального эпителия.

Антитела IgM и G к ЦМВ, низкоавидные IgG (индекс авидности) определялись методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием наборов ЗАО «Вектор-Бест» (Россия). ДНК ЦМВ выявляли методом ПЦР-анализа в режиме реал-тайм на аппарате ДТ-96 с использованием наборов «НПО ДНК-технология» (Россия).

Материалом для исследования служили периферическая кровь, моча, соскоб буккального эпителия.

Концентрацию VEGF-1 определяли методом ИФА с использованием наборов ЗАО «БиоХимМак» (Москва). Содержание ДГК анализировали с помощью метода капиллярной газожидкостной хроматографии по методу, описанному J.P.Carreau, J.P.Dubacq [12].

В исследование были включены шесть здоровых добровольцев в возрасте 26-35 лет. При проведении исследования руководствовались принципами Хельсинкской декларации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов исследования» с поправками 2013 г. и нормативными документами «Правила надлежащей клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом №200н от 01.04.2016 МЗ РФ. Все лица подписывали информированное согласие на участие в исследовании в соответствии с протоколом, одобренным локальным Комитетом по биомедицинской этике ДНЦ ФПД.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программного пакета Statistica 6.0. Проверку гипотезы о соответствии совокупностей количественных признаков закону нормального распределения осуществляли с использованием критерия Шапиро-Уилка. В случае подчинения распределения признака закону нормального распределения данные представляли в виде средней величины (M) и стандартной ошибки (m). Для определения значимости различий использовался критерий Стьюдента (t).

Результаты исследования и их обсуждение

При анализе содержания в сыворотке крови VEGF-1 в группах наблюдения выявлены существенные различия (табл.). Так, концентрация VEGF-1 у беременных основной группы была в 1,7 раз ($p < 0,001$) ниже по сравнению с аналогичным показателем беременных контрольной группы. Аналогичная динамика изменений была установлена для ДГК, концентрация которой определялась ниже показателя контрольной группы в 1,4 раза ($p < 0,001$).

Причиной выявленных закономерностей изменения содержания ДГК является вызываемая обострением ЦМВИ активация процессов перекисного окисления липидов [13], в результате чего образуются активные

формы кислорода (АФК), вызывающие дефицит антиоксидантной активности и увеличение гидратированных продуктов ω -3 ПНЖК, в том числе ДГК [14]. Есть данные о том, что ДГК улучшает нитрозо-окислительно-восстановительный баланс, модулируя выработку оксида азота (NO) / O_2^- , инициируя тем самым VEGF-1 опосредованную ангиогенную передачу сигналов в эндотелиальных клетках микрососудов [15]. Возможно, наиболее значимым фактором транскрипции, связанным с передачей сигналов АФК, является ядерный транскрипционный фактор-кВ (NF-kB). Увеличение продукции АФК, как показано в ряде работ, может привести к увеличению экспрессии NF-kB и усилению регуляции факторов, участвующих в ангиогенезе [16]. Более того, добавление H_2O_2 к эндотелиальным клеткам *in vivo* приводит к повышенной экспрессии мРНК VEGFR-2 через АФК и NF-kB пути. В дополнение к ангиогенным факторам, индуцирующим NF-kB, и экспрессии их рецепторов, он также может активироваться ангиогенными факторами, такими как VEGF-1 [7]. Такая взаимосвязь может потенциально изменять ангиогенный ответ, запускаемый клеточным окислительным стрессом. В исследовании показано, что инактивация VEGF-1 приводила к гибели эмбриона при сроке 11-12 дней [17]. По другим данным, уменьшение экспрессии VEGF-1 связано с нарушением перфузии в эндометрии, что делает его невосприимчивым, и, в конечном итоге, приводит к ранней потере беременности [18].

Таблица

Содержание VEGF-1 и ДГК в сыворотке крови беременных первого триместра с обострением ЦМВИ и начавшимся самопроизвольным выкидышем

Показатель	Контрольная группа	Основная группа	p
VEGF-1, нг/мл	16,40±1,20	9,86±0,80	<0,001
ДГК, %	8,20±0,42	5,90±0,26	<0,001

Таким образом, выявленное в ходе исследования уменьшение концентрации VEGF-1 и ДГК у беременных женщин с самопроизвольным абортom, ассоциированным с обострением ЦМВИ на ранних сроках, приводит к нарушению адгезии и инвазии трофобласта, задержке формирования маточно-плацентарного сосудистого кровотока и гибели эмбриона [19]. Полученные результаты свидетельствуют о важной роли VEGF-1 и ДГК в угрожающем течении ранних сроков беременности, ассоциированном с обострением ЦМВИ.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Источники финансирования

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

1. Лебедева О.П., Иванова О.Н., Пахомов С.П., Калущий П.В., Сухих Н.В. Невынашивание беременности как проблема иммунного конфликта // Проблемы репродукции. 2014. №6. С.88–91. doi: 10.17116/репро201420688-91
2. Чешик С.Г., Кистенева Л.Б. Цитомегаловирусная инфекция и спонтанные аборт у женщин в I и II триместрах беременности // Вопросы вирусологии. 2016. Т.61, №2. С.74–78. <https://doi.org/10.18821/0507-4088-2016-61-2-74-78>
3. Тулеуова Ж.К. Невынашивание беременности и инфекция // Медицинский журнал Западного Казахстана. 2011. №1(29). С.72–73.
4. Петрова К.К. Оценка относительного риска внутриутробной инфекции плода при цитомегаловирусной инфекции на ранних сроках беременности // Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal). 2019. Т.4, №3. С.45–51. <https://doi.org/10.29413/ABS.2019-4.3.6>
5. Демченко Н.С., Башмакова Н.В., Третьякова Т.Б. Патогенез невынашивания беременности: роль сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF-A) // Уральский медицинский журнал. 2012. №11(103). С.6.
6. Burton G.J., Charnock-Jones D.S., Jauniaux E. Regulation of vascular growth and function in the human placenta // Reproduction. 2009. Vol.138, №6. P.895–902. doi: 10.1530/REP-09-0092
7. González-Pacheco F.R., Deudero J.J., Castellanos M.C., Castilla M.A., Alvarez-Arroyo M.V., Yagüe S., Caramelo C. Mechanisms of endothelial response to oxidative aggression: protective role of autologous VEGF and induction of VEGFR2 by H₂O₂ // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. 2006. Vol.291, №3. H1395–401. doi: 10.1152/ajpheart.01277.2005
8. Ульянина Е.В., Фаткуллин И.Ф. Роль сосудистого эндотелиального фактора роста в прогнозе сосудистых нарушений у беременных с синдромом задержки развития плода // Казанский медицинский журнал. 2015. Т.96, №2. С.220–223. doi: 10.17750/KMJ2015-220
9. Pandya A.D., Das M.K., Sarkar A., Vilasagaram S., Basak S., Duttaroy A.K. Tube formation in the first trimester placental trophoblast cells: Differential effects of angiogenic growth factors and fatty acid // Cell Biol. Int. 2016. Vol.40, №6. P.652–661. doi: 10.1002/cbin.10601
10. Das U.N. Cytokines, angiogenic and antiangiogenic factors and bioactive lipids in preeclampsia // Nutrition. 2015. Vol.31, №9. P.1083–1095. doi:10.1016/j.nut.2015.03.013
11. Hasan A.U., Ohmori K., Konishi K., Igarashi J., Hashimoto T., Kamitori K., Yamaguchi F., Tsukamoto I., Uyama T., Ishihara Y., Noma T., Tokuda M., Kohno M. Eicosapentaenoic acid upregulates VEGF-A through both GPR120 and PPAR γ mediated pathways in 3T3-L1 adipocytes // Mol. Cell. Endocrinol. 2015. Vol.406. P.10–18. doi: 10.1016/j.mce.2015.02.012
12. Carreau J.P., Dubacq J.P. Adaptation of a macro-scale method to the micro-scale for fatty acid methyl transesterification of biological lipid extracts // J. Chromatography. 1978. Vol.151, №3. P.384–390. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)88356-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)88356-9)
13. Андриевская И.А., Ишутина Н.А., Кутепова О.Л. Свободнорадикальное окисление и оксигенация гемоглобина при обострении цитомегаловирусной инфекции во втором триместре беременности // Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal). 2018. Т.3, №4. С.9–14. doi: 10/29413/ABS.2018-3.4.1
14. Lebold K.M., Kirkwood J.S., Taylor A.W., Choi J., Barton C.L., Miller G.W., La Du J., Jump D.B., Stevens J.F., Tanguay R.L., Traber M.G. Novel liquid chromatography-mass spectrometry method shows that vitamin E deficiency depletes arachidonic and docosahexaenoic acids in zebrafish (*Danio rerio*) embryos // Redox Biol. 2013. Vol.2. P.105–113. doi: 10.1016/j.redox.2013.12.007
15. Rezende F.A., Lapalime E., Qian C.X., Smith L.E., Sangiovanni J.P., Sapieha P. Omega-3 Supplementation Combined With Anti-Vascular Endothelial Growth Factor Lowers Vitreal Levels of Vascular Endothelial Growth Factor in Wet Age-Related Macular Degeneration // Am. J. Ophthalmol. 2014. Vol.158, №5. P.1071–1078. doi: 10.1016/j.ajo.2014.07.036
16. Tan B.K., Adya R., Chen J., Farhatullah S., Heutling D., Mitchell D., Lehnert H., Randeve H.S. Metformin decreases angiogenesis via NF- κ B and Erk1/2/Erk5 pathways by increasing the antiangiogenic thrombospondin-1 // Cardiovasc. Res. 2009. Vol.83, №3. P.566–574. doi: 10.1093/cvr/cvp131
17. Кравцова Е.И., Куценко И.И., Колесникова Н.В., Томина О.В., Зубко Е.А. Клинико-иммунологические аспекты ранних репродуктивных потерь у пациенток с аденомиозом // Кубанский научный медицинский вестник. 2020. Т.27, №2. С.81–91. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2020-27-2-81-91>
18. Таболова В.К., Корнеева И.Е., Донников А.Е., Бурменская О.В., Маслова М.А., Смольникова В.Ю. Профиль локальной экспрессии генов ростовых факторов и цитокинов в эндометрии «имплантационного окна» при хроническом эндометрите // Акушерство и гинекология. 2014. №12. С.74–78.

19. Яковлева Н.Ю., Хазова Е.Л., Васильева Е.Ю., Зазерская И.Е. Соотношение ангиогенных и антиангиогенных факторов при преэклампсии // Артериальная гипертензия. 2016. Т.22, №5. С.488–494. <https://doi.org/10.18705/1607-419X-2016-22-5-488-494>

REFERENCES

1. Lebedeva O.P., Ivanova O.N., Pakhomov S.P., Kalutsky P.V., Suhil N.V. Miscarriages as a result of immune conflict. *Problemy reproduktivnoy* 2014; (6):88–91 (in Russian). doi: 10.17116/repro201420688-91
2. Cheshik S.G., Kisteneva L.B. Human cytomegalovirus infection and spontaneous abortion in pregnant women of I and II trimester. *Problems of Virology* 2016; 61(2):74–78 (in Russian). <https://doi.org/10.18821/0507-4088-2016-61-2-74-78>
3. Tuleuova Zh.Kh. Miscarriage and infections. *Medical Journal of West Kazakhstan* 2001; (1):72–73 (in Russian).
4. Petrova K.K. Relative risk assessment of intrauterine infection of the fetus during cytomegalovirus infection in early pregnancy. *Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal)* 2019; 4(3):45–51 (in Russian). <https://doi.org/10.29413/ABS.2019-4.3.6>
5. Demchenko N.S., Bashmakova N.V., Tretyakova T.B. Pathogenesis of the pregnancy loss: role of the vascular endothelial growth factor (VEGF-A). *Uralskiy meditsinskiy zhurnal=Ural Medical Journal* 2012; (11):6 (in Russian).
6. Burton G.J., Charnock-Jones D.S., Jauniaux E. Regulation of vascular growth and function in the human placenta. *Reproduction* 2009; 138(6):895–902. doi: 10.1530/REP-09-0092
7. González-Pacheco F.R., Deudero J.J., Castellanos M.C., Castilla M.A., Alvarez-Arroyo M.V., Yagüe S., Caramelo C. Mechanisms of endothelial response to oxidative aggression: protective role of autologous VEGF and induction of VEGFR2 by H₂O₂. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2006; 291(3):H1395–401. doi: 10.1152/ajpheart.01277.2005
8. Ul'yanina E.V., Fatkullin I.F. Vascular endothelial growth factor role in predicting vascular disorders in pregnant with fetal growth restriction syndrome. *Kazan medical journal* 2015; 96(2):220–223 (in Russian). doi: 10.17750/KMJ2015-220
9. Pandya A.D., Das M.K., Sarkar A., Vilasagaram S., Basak S., Duttaroy A.K. Tube formation in the first trimester placental trophoblast cells: Differential effects of angiogenic growth factors and fatty acid. *Cell Biol. Int.* 2016; 40(6):652–661. doi: 10.1002/cbin.10601
10. Das U.N. Cytokines, angiogenic and antiangiogenic factors and bioactive lipids in preeclampsia. *Nutrition* 2015; 31(9):1083–1095. doi: 10.1016/j.nut.2015.03.013
11. Hasan A.U., Ohmori K., Konishi K., Igarashi J., Hashimoto T., Kamitori K., Yamaguchi F., Tsukamoto I., Uyama T., Ishihara Y., Noma T., Tokuda M., Kohno M. Eicosapentaenoic acid upregulates VEGF-A through both GPR120 and PPAR γ mediated pathways in 3T3-L1 adipocytes. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2015; 406:10–18. doi: 10.1016/j.mce.2015.02.012
12. Carreau J.P., Dubacq J.P. Adaptation of a macro-scale method to the micro-scale for fatty acid methyl transesterification of biological lipid extracts. *J. Chromatography* 1978; 151(3):384–390. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)88356-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)88356-9)
13. Andrievskaya I.A., Ishutina N.A., Kutepova O.L. Free-radical oxidation and oxygenation of hemoglobin at exacerbation of cytomegalovirus infection in the second trimester of pregnancy. *Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal)* 2018; 3(4):9–14 (in Russian). doi: 10/29413/ABS.2018-3.4.1
14. Lebold K.M., Kirkwood J.S., Taylor A.W., Choi J., Barton C.L., Miller G.W., La Du J., Jump D.B., Stevens J.F., Tanguay R.L., Traber M.G. Novel liquid chromatography-mass spectrometry method shows that vitamin E deficiency depletes arachidonic and docosahexaenoic acids in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Redox Biol.* 2013; 2:105–113. doi: 10.1016/j.redox.2013.12.007
15. Rezende F.A., Lapalime E., Qian C.X., Smith L.E., Sangiovanni J.P., Sapieha P. Omega-3 Supplementation Combined With Anti-Vascular Endothelial Growth Factor Lowers Vitreal Levels of Vascular Endothelial Growth Factor in Wet Age-Related Macular Degeneration. *Am. J. Ophthalmol.* 2014; 158(5):1071–1078. doi: 10.1016/j.ajo.2014.07.036
16. Tan B.K., Adya R., Chen J., Farhatullah S., Heutling D., Mitchell D., Lehnert H., Randeve H.S. Metformin decreases angiogenesis via NF- κ B and Erk1/2/Erk5 pathways by increasing the antiangiogenic thrombospondin-1. *Cardiovasc. Res.* 2009; 83(3):566–574. doi: 10.1093/cvr/cvp131
17. Kravtsova E.I., Kutsenko I.I., Kolesnikova N.V., Tomina O.V., Zubko E.A. Clinical and immunological aspects of early reproductive losses in patients with adenomyosis. *Kuban Scientific Medical Bulletin* 2020; 27(2):81–91 (in Russian). <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2020-27-2-81-91>
18. Tabolova V.K., Korneeva I.E., Donnikov A.E., Burmenskaya O.V., Maslova M.A., Smolnikova V.Yu. The local endometrial expression profile of the growth factor and cytokine genes during the implantation window in chronic endometritis. *Obstetrics and Gynecology* 2014; (12):74–78 (in Russian).
19. Yakovleva N.Yu., Khazova E.L., Vasil'eva E.Yu., Zazerskaya I.E. Ratio of angiogenic and anti-angiogenic factors in preeclampsia. *Arterial'naya Gipertenziya (Arterial Hypertension)* 2016; 22(5):488–494 (in Russian). <https://doi.org/10.18705/1607-419X-2016-22-5-488-494>

Информация об авторах:

Наталья Александровна Ишутина, д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: ishutina-na@mail.ru

Ирина Анатольевна Андриевская, д-р биол. наук, профессор РАН, зав. лабораторией механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru

Николай Геннадьевич Приходько, аспирант, лаборатория механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: nikprih@mail.ru

Author information:

Natalia A. Ishutina, PhD, D.Sc. (Biol.), Leading Staff Scientist, Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: ishutina-na@mail.ru

Irina A. Andrievskaya, PhD, D.Sc. (Biol.), Professor of RAS, Head of Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru

Nikolay G. Prikhodko, Postgraduate student of Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: nikprih@mail.ru

Поступила 16.11.2020
Принята к печати 27.11.2020

Received November 16, 2020
Accepted November 27, 2020

УДК (612.211+616.233) 579.233:577.121] 578.825.12 (616-053.31:616-056.72)

DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-122-127

ИЗМЕНЕНИЕ ФИЗИКО-БИОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НОСОГЛОТОЧНОГО АСПИРАТА У НОВОРОЖДЕННЫХ С ВРОЖДЕННОЙ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

И.А.Андриевская¹, И.Н.Гориков¹, Н.А.Ишутина¹, Л.М.Сомова², А.Н.Одиреев¹,
И.В.Довжикова¹, В.П.Самсонов¹

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.П.Сомова», 690087, г. Владивосток, ул. Сельская, 1

РЕЗЮМЕ. Цель. Изучить изменение физико-биохимических свойств носоглоточного аспирата у новорожденных с врожденной цитомегаловирусной инфекцией (ЦМВИ). **Материалы и методы.** Исследовались pH, содержание среднемолекулярных пептидов, серомукоида, общего холестерина, триглицеридов и активность лактатдегидрогеназы в носоглоточном аспирате у 59 доношенных новорожденных с внутриутробным развитием, неосложненным и осложненным врожденной ЦМВИ, погибших на 2-5 день жизни. В первую группу вошли 25 детей раннего неонатального возраста (контрольная группа), матери которых в период беременности не имели среднетяжелой и тяжелой акушерской и соматической патологии, а также респираторной вирусной инфекции и инфекций, передающихся половым путем. Вторая группа была представлена 18 новорожденными (группа сравнения) от матерей с обострением ЦМВИ во втором триместре гестации, не приводящем к антенатальному инфицированию их потомства. Третья группа состояла из 16 новорожденных (основная группа) с диагностированной внутриутробной ЦМВИ. **Результаты.** В носоглоточном аспирате у новорожденных второй группы по сравнению с первой не обнаруживалось статистически значимых различий величины pH ($7,02 \pm 0,016$ и $7,05 \pm 0,016$, соответственно, $p > 0,05$). В то же время отмечалось снижение концентрации общего холестерина ($0,196 \pm 0,006$ и $0,238 \pm 0,003$ ммоль/л, соответственно, $p < 0,001$), повышение содержания среднемолекулярных пептидов ($0,595 \pm 0,032$ и $0,345 \pm 0,005$ ммоль/л, соответственно, $p < 0,001$), серомукоида ($0,112 \pm 0,002$ и $0,098 \pm 0,001$ ед. опт. пл., соответственно, $p < 0,001$), триглицеридов ($0,160 \pm 0,005$ и $0,145 \pm 0,004$ ммоль/л, соответственно, $p < 0,05$) и активности лактатдегидрогеназы ($345,0 \pm 14,16$ и $287,6 \pm 10,23$ МЕ/л, соответственно, $p < 0,01$). В третьей группе по сравнению со второй регистрировалось снижение pH в 1,01 раза ($p < 0,01$) и содержания общего холестерина в 1,35 раза ($p < 0,001$), увеличение концентрации среднемолекулярных пептидов в 1,32 раза ($p < 0,05$), серомукоида – в 1,13 раза ($p < 0,001$), триглицеридов – в 1,24 раза ($p < 0,001$) и уровня лактатдегидрогеназы – в 1,15 раза ($p < 0,05$). **Заключение.** При внутриутробной ЦМВИ у погибших новорожденных изменение физико-биохимических свойств носоглоточного аспирата в первые минуты после рождения указывает на антенатальное прямое и опосредованное негативное влияние инфекта на состояние амниотической оболочки, плаценты и органов внутриутробного плода.

Ключевые слова: доношенные новорожденные, врожденная цитомегаловирусная инфекция, носоглоточный аспират.

CHANGES IN PHYSICO-BIOCHEMICAL PROPERTIES OF NASOPHARYNGEAL ASPIRATE IN NEWBORNS WITH CONGENITAL CYTOMEGALOVIRUS INFECTION

Контактная информация

Ирина Анатольевна Андриевская, д-р биол. наук, профессор РАН, зав. лабораторией механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22. E-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru

Correspondence should be addressed to

Irina A. Andrievskaya, PhD, D.Sc. (Biol.), Professor RAS, Head of Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation. E-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru

Для цитирования:

Андриевская И.А., Гориков И.Н., Ишутина Н.А., Сомова Л.М., Одиреев А.Н., Довжикова И.В., Самсонов В.П. Изменение физико-биохимических свойств носоглоточного аспирата у новорожденных с врожденной цитомегаловирусной инфекцией // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2020. Вып.78. С.122–127. DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-122-127

For citation:

Andrievskaya I.A., Gorikov I.N., Ishutina N.A., Somova L.M., Odireev A.N., Dovzhikova I.V., Samsonov V.P. Changes in physico-biochemical properties of nasopharyngeal aspirate in newborns with congenital cytomegalovirus infection. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2020; (78):122–127 (in Russian). DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-122-127

I.A.Andrievskaya¹, I.N.Gorikov¹, N.A.Ishutina¹, L.M.Somova², A.N.Odireev¹, I.V.Dovzhikova¹, V.P.Samsonov¹

¹Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

²Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, 1 Selskaya Str., Vladivostok, 690087, Russian Federation

SUMMARY. Aim. To study the change in the physico-biochemical properties of the nasopharyngeal aspirate in newborns with congenital cytomegalovirus infection (CMVI). **Materials and methods.** The pH, the concentration of medium molecular weight peptides, seromucoid, total cholesterol, triglycerides, and the activity of lactate dehydrogenase in the nasopharyngeal aspirate in 59 full-term infants with intrauterine development, uncomplicated and complicated by congenital CMVI, who died at 2-5 days of life, were studied. The first group included 25 children of early neonatal age (control group), whose mothers did not have moderate and severe obstetric and somatic pathologies during pregnancy, as well as respiratory viral infections and sexually transmitted infections. The second group was represented by 18 newborns (comparison group) from mothers with exacerbation of CMVI in the second trimester of gestation, which does not lead to antenatal infection of their offspring. The third group consisted of 16 newborns (main group) with diagnosed intrauterine CMVI. **Results.** In the nasopharyngeal aspirate in the newborns of the second group, in comparison with the first one, there were no statistically significant differences in pH (7.02 ± 0.016 and 7.05 ± 0.016 , respectively, $p > 0.05$). At the same time, there was a decrease in the concentration of total cholesterol (0.196 ± 0.006 and 0.238 ± 0.003 mmol/L, respectively, $p < 0.001$), an increase in the concentration of medium molecular weight peptides (0.595 ± 0.032 and 0.345 ± 0.005 mmol/L, respectively, $p < 0.001$), seromucoid (0.112 ± 0.002 and 0.098 ± 0.001 optical density units, respectively, $p < 0.001$), triglycerides (0.160 ± 0.005 and 0.145 ± 0.004 mmol/L, respectively, $p < 0.05$) and lactate dehydrogenase activity (345.0 ± 14.16 and 287.6 ± 10.23 IU/L, respectively, $p < 0.01$). In the third group, in comparison with the second one, a decrease in pH by 1.01 times ($p < 0.01$) and in total cholesterol by 1.35 times ($p < 0.001$), an increase in the concentration of medium molecular weight peptides by 1.32 times ($p < 0.05$), seromucoid – 1.13 times ($p < 0.001$), triglycerides – 1.24 times ($p < 0.001$) and the level of lactate dehydrogenase – 1.15 times ($p < 0.05$). **Conclusion.** In dead newborns with intrauterine CMVI, a change in the physico-biochemical properties of the nasopharyngeal aspirate in the first minutes after birth indicates an antenatal direct and indirect negative effect of the infection on the state of the amniotic membrane, placenta and organs of the intrauterine fetus.

Key words: full-term infants, congenital cytomegalovirus infection, nasopharyngeal aspirate.

При осложненном антенатальном онтогенезе изменение содержимого носоглотки у новорожденных в первые минуты жизни обусловлено не только интенсивностью метаболических процессов аспирированной амниотической жидкости [1–4], но и нарушением функционального состояния организма внутриутробного плода [5]. Исследование основных свойств назофарингеального аспирата у детей при рождении способствует более раннему установлению у них патологии органов и систем [6]. Несмотря на известную роль оценки состояния носоглоточного аспирата в перинатальной медицине, до настоящего времени не установлены его изменения у новорожденных с внутриутробной цитомегаловирусной инфекцией (ЦМВИ).

Цель работы – изучить изменение физико-биохимических свойств носоглоточного аспирата у новорожденных с врожденной ЦМВИ.

Материалы и методы исследования

Проводилось изучение pH, содержания среднемолекулярных пептидов, серомукоида, общего холестерина, триглицеридов и активности лактатдегидрогеназы в носоглоточном аспирате у 59 погибших доношенных новорожденных с антенатальным анамнезом, неосложненным и отягощенным внутриутробной ЦМВИ.

Первая группа была представлена 25 детьми раннего неонатального возраста, матери которых не имели в период гестации вирусных инфекций, а также сома-

тической и акушерской патологии со среднетяжелым функциональным состоянием их органов и систем. Основной причиной смерти новорожденных на 2-5 день жизни являлась родовая травма, интранатальная и постнатальная гипоксия, ателектазы и гиалиновые мембраны легких.

Вторая группа состояла из 18 доношенных новорожденных, матери которых перенесли обострение ЦМВИ во втором триместре гестации. При рождении у всех обследованных не выявлялись признаки внутриутробной инфекции. Смерть детей наступила на 2-5 день жизни в результате ante- интра- постнатальной гипоксии и ателектаза легких.

В третью группу были включены 16 новорожденных, у которых с помощью иммуноферментного и молекулярно-генетического анализа диагностирована врожденная ЦМВИ, которая проявлялась церебральной ишемией средней и тяжелой степени, гипертонивно-гидроцефальным и судорожным синдромами, псевдокистами сосудистого сплетения, субэпендимальными и субарахноидальными гемorragиями, локальными и генерализованными формами антенатального инфицирования. Продолжительность жизни детей этой группы составляла от 2 до 5 дней.

Для верификации врожденной ЦМВИ использовали иммуноферментный и молекулярно-генетический анализ. В пуповинной крови у детей при рождении выявлялись антитела IgM к ЦМВ, а также четырехкратный рост титра антител IgG к ЦМВ в парах мать–дитя.

ДНК ЦМВ выделялась в пуповинной крови, носоглоточном аспирате, цереброспинальной жидкости и в моче, а также в легких погибших новорожденных.

При заборе носоглоточного аспирата у детей при рождении для физико-биохимического исследования соблюдались соответствующие требования [5, 6]: 1) кожа носогубного треугольника у новорожденных освобождалась от частиц мекония и элементов околоплодных вод; 2) к стерильному шприцу объёмом 10 мл присоединяли мягкий полихлорвиниловый зонд; 3) проводилось осторожное введение зонда в полость носа и глотки ребенка; 4) шприцем медленно насасывалось 2,5-3,0 мл носоглоточного аспирата; 5) биологическая жидкость подвергалась центрифугированию при 1500 об/мин в течение 10 минут; 6) в надсадочной части носоглоточного аспирата определялась рН на аппарате Radelkis (Венгрия) и Medica EasyStat (США), оценивалась активность лактатдегидрогеназы (МЕ/л), содержание общего холестерина и триглицеридов с помощью стандартных наборов реагентов на аппарате «Beckman Coulter, Inc» (США). Определяли концентрацию среднемолекулярных пептидов (ед. опт. пл.) на спектрофотометре СФ-24 (Россия) при длине волны 280 нм (Е280), содержание серомукоида (ед. опт. пл.) устанавливали на фотоэлектроколориметре.

Обследование новорожденных осуществлялось с согласия их матерей и в соответствии с кодексом этических принципов Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта» с поправками 2013 года, Правилами надлежащей клинической практики в Российской Федерации, утвержденными Приказом Минздрава РФ №200н от 1 апреля 2016 года.

Работа одобрена комитетом по биомедицинской этике при Дальневосточном научном центре физиологии и патологии дыхания.

При статистической обработке данных использовали пакет программ Statistica 10.0. Оценка различий между показателями в исследуемых группах осуществлялась с помощью t-критерия Стьюдента. Различия считались статистически достоверными при достигнутом уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты обследования представлены в таблице. В носоглоточном аспирате у доношенных новорожденных второй группы по сравнению с первой не диагностировались статистически значимые различия величины рН. Однако отмечалось снижение общего холестерина – в 1,21 раза ($p < 0,001$), повышение уровня среднемолекулярных пептидов в 1,72 раза ($p < 0,001$), серомукоида – в 1,14 раза ($p < 0,001$) и уровня лактатдегидрогеназы – в 1,19 раза ($p < 0,01$). Данные показатели отражали проникновение в содержимое носоглотки из околоплодных вод недоокисленных продуктов обмена, мекония и эндотоксинов, образующихся при воспалении амниотической оболочки и структур плаценты [1–3], а также десквамированных клеточных элементов бронхолегочного аппарата внутриутробного плода. Среди липидов аспирата возрастала концентрация триглицеридов в 1,10 раз ($p < 0,05$), представленных продуктами деградации клеточных мембран [4]. Это объяснялось негативным влиянием обменно-метаболических нарушений в системе мать–плод при обострении ЦМВИ, не приводящем к антенатальному инфицированию их потомства.

Таблица

Изменение содержания рН, среднемолекулярных пептидов, серомукоида, общего холестерина, триглицеридов и активности лактатдегидрогеназы в носоглоточном аспирате у погибших доношенных новорожденных в исследуемых группах

Показатели	Исследуемые группы		
	Первая	Вторая	Третья
рН	7,04±0,013	7,02±0,016 $p_1 > 0,05$	6,96±0,015 $p_1 < 0,001$; $p_2 < 0,01$
Среднемолекулярные пептиды, ед. опт. пл.	0,345±0,005	0,595±0,032 $p_1 < 0,001$	0,784±0,017 $p_1 < 0,001$; $p_2 < 0,001$
Серомукоид, ед. опт. пл.	0,098±0,001	0,112±0,002 $p_1 < 0,001$	0,126±±0,002 $p_1 < 0,001$; $p_2 < 0,001$
Общий холестерин, ммоль/л	0,238±0,003	0,196±0,006 $p_1 < 0,001$	0,145±0,006 $p_1 < 0,001$; $p_2 < 0,001$
Триглицериды, ммоль/л	0,145±0,004	0,160±0,005 $p_1 < 0,05$	0,199±0,005 $p_1 < 0,001$; $p_2 < 0,001$
Лактатдегидрогеназа, МЕ/л	287,6±10,23	345,0±14,16 $p_1 < 0,01$	395,5±16,38 $p_1 < 0,001$; $p_2 < 0,05$

Примечание: p_1 – уровень статистической значимости различий по сравнению с первой группой; p_2 – по сравнению со второй группой.

В третьей группе в сопоставлении со второй в аспирате из носоглотки регистрировалось падение уровня рН в 1,01 раза ($p < 0,01$) и общего холестерина – в 1,35 раза ($p < 0,001$). Наблюдалось увеличение содержания среднемoleкулярных пептидов в 1,32 раза ($p < 0,001$), серомукоида – в 1,13 раза ($p < 0,001$), триглицеридов – в 1,24 раза ($p < 0,001$) и уровня лактатдегидрогеназы – в 1,15 раза ($p < 0,05$).

У погибших новорожденных с врожденной ЦМВИ снижение рН и повышение активности лактатдегидрогеназы в биологической жидкости объясняется развитием ацидоза и влиянием недоокисленных продуктов обмена [7], а рост среднемoleкулярных пептидов и серомукоида – токсичностью аспириата [5–8], в который проникают продукты воспалительной деструкции плаценты, а также метаболиты плода [2, 3]. При этом в носоглоточном аспирате изменяется соотношение общего холестерина и триглицеридов – маркеров активации мембранодеструктивных процессов и нарушения липидсинтезирующей функции печени.

Выводы

1. У погибших доношенных новорожденных с врожденной ЦМВИ по сравнению с детьми аналогичного срока гестации от матерей с обострением ЦМВИ во втором триместре гестации, не имеющими внутриутробной вирусной инфекции, в назофарингеальном аспирате отмечается снижение рН, а также повышение концентрации среднемoleкулярных пептидов, серому-

коида и активности лактатдегидрогеназы. Вышеуказанные изменения биологической жидкости обусловлены неблагоприятным влиянием гипоксическо-токсического фактора на состояние провизорного органа и внутриутробного плода.

2. В носоглоточном аспирате у погибших доношенных новорожденных с врожденной ЦМВИ в сопоставлении с таковым у детей аналогичного возраста от матерей с обострением ЦМВИ, не приводящем к антенатальной вирусной агрессии, возрастает концентрация триглицеридов и снижается уровень общего холестерина. Это указывает на перестройку липидного спектра околоплодной жидкости в результате развития цитодеструктивных процессов в амниотической оболочке и плаценте, а также на нарушение липидсинтезирующей функции печени при внутриутробном прямом и опосредованном негативном влиянии вируса цитомегалии.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Источники финансирования

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

1. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Макаров О.В., Бахарева И.В., Таранец А.Н. Клеточные и гуморальные компоненты амниотической жидкости в норме и при внутриутробном инфицировании // Иммунология. 2003. Т.24, №6. С.350–351.
2. Бурлев В.А., Орджоникидзе Н.В., Ушнищкая Е.К., Коноводова Е.Н., Лапшина И.И., Кан Н.Е. Биохимический мониторинг у беременных с многоводием инфекционного генеза на фоне терапии // Проблемы репродукции. 2004. Т.10, №2. С.62–68.
3. Бахарева И.В. Прогностическое значение исследования амниотической жидкости у беременных с высоким риском внутриутробной инфекции // Российский медицинский журнал. 2009. №4. С.31–36.
4. Друккер Н.А., Ермолова Н.В., Авруцкая В.В., Зенкина З.В., Шкотова Е.О., Дурнищына О.А., Ерджянян Л.Л. Влияние изменений клеточных биоактивных веществ амниотической жидкости на формирование задержки роста плода и развитие преждевременных родов // Российский вестник акушера-гинеколога. 2017. Т.17, №6. С.14–17. <https://doi.org/10.17116/rosakush201717614-18>
5. Способ ранней диагностики вентрикуломегалии при церебральной ишемии тяжелой степени у новорожденных с внутриутробной цитомегаловирусной инфекцией: пат. 2542429 RU / авторы и заявители И.Н.Гориков, М.Т.Луценко, В.П.Колосов, А.А.Григоренко, Т.В.Заболотских, В.П.Самсонов; патентообладатель ФГБУ ДНЦ ФПД СО РАМН; заявл.12.12.2013; опубл. 20.02.2015.
6. Способ дифференциальной диагностики генерализованной формы внутриутробной моно- и микст-цитомегаловирусной инфекции у новорожденных: пат. 2553632 RU / авторы и заявители И.Н.Гориков, М.Т.Луценко, В.П.Колосов, А.А.Григоренко, Т.В.Заболотских, В.П. Самсонов; патентообладатель ФГБУ ДНЦ ФПД СО РАМН; заявл.12.12.2013; опубл. 20.06. 2015.
7. Абрамченко В.В., Шабалов Н.П. Клиническая перинатология. Петрозаводск: Интелтек, 2004. 424 с.
8. Самсонов В.П., Луценко М.Т., Новик Е.В. Диагностика различных степеней эндотоксикоза при абсцессах легких: методические рекомендации. Благовещенск, 1988. 19 с.

REFERENCES

1. Kovalchuck L.V., Gankovskaya L.V., Makarov O.V., Bakhareva I.V., Taranets A.N. The cellular and humoral com-

ponents of amniotic fluid in health and in intrauterine infection. *Immunologiya* 2003; 24(6):350–351 (in Russian).

2. Burlev V.A., Ordzhonikidze N.V., Ushnitskaya E.K., Konovodova E.N., Lapshina I.I., Kan N.E. Biochemical monitoring in pregnant women with polyhydramnios of infectious genesis during therapy. *Problemy reproduksii = Russian Journal of Human Reproduction* 2004; 10(2):62–68 (in Russian).

3. Bakhareva I.V. Prognostic value of a study of amniotic fluid in pregnant women at high risk for intrauterine infection. *Russian Medical Journal* 2009; (4):31–36 (in Russian).

4. Drukker N.A., Ermolova N.V., Avrutsкая V.V., Zenkina Z.V., Shkotova E.O., Durnitsyna O.A., Erdzhanyan L.L. Impact of changes in cellular bioactive substances of amniotic fluid on the development of fetal growth restriction and preterm labor. *Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist = Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa* 2017; 17(6):14–18 (in Russian). <https://doi.org/10.17116/rosakush201717614-18>

5. Gorikov I.N., Lutsenko M.T., Kolosov V.P., Grigorenko A.A., Zabolotskikh T.V., Samsonov V.P. Patent 2542429 RU. Method for early diagnosis of ventriculomegaly in severe cerebral ischemia in newborns with intrauterine cytomegalovirus infection; published 20.02.2015 (in Russian).

6. Gorikov I.N., Lutsenko M.T., Kolosov V.P., Grigorenko A.A., Zabolotskikh T.V., Samsonov V.P. Patent 2553632 RU. Method for differential diagnosis of generalized form of intrauterine mono- and mixed cytomegalovirus infection in newborns; published 20.06. 2015 (in Russian).

7. Abramchenko V.V., Shabalov N.P. Clinical perinatal medicine. Petrozavodsk: Inteltek; 2004 (in Russian).

8. Samsonov V.P., Lutsenko M.T., Novik E.V. Diagnosing of endotoxemia different degrees at lungs abscess: methodological recommendations. Blagoveshchensk; 1988 (in Russian).

Информация об авторах:

Author information:

Ирина Анатольевна Андриевская, д-р биол. наук, профессор РАН, зав. лабораторией механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru

Irina A. Andrievskaya, PhD, D.Sc. (Biol.), Professor RAS, Head of Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru

Игорь Николаевич Гориков, канд. мед. наук, старший научный сотрудник, лаборатория механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: dcfpd@dcfpd.ru

Igor' N. Gorikov, MD, PhD (Med.), Senior Staff Scientist, Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: dncfpd@dncfpd.ru

Наталья Александровна Ишутина, д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: ishutina-na@mail.ru

Natalia A. Ishutina, PhD, D.Sc. (Biol.), Leading Staff Scientist, Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: ishutina-na@mail.ru

Лариса Михайловна Сомова, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, лаборатория клеточной биологии и гистопатологии, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.П.Сомова»; e-mail: l_somova@mail.ru

Larisa M. Somova, MD, PhD, D.Sc. (Med.), Professor, Main Staff Scientist, Laboratory of Cell Biology and Histopathology, Somov Institute of Epidemiology and Microbiology; e-mail: l_somova@mail.ru

Андрей Николаевич Оди́рев, д-р мед. наук, зав. лабораторией профилактики неспецифических заболеваний легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: bulletin.fpd@mail.ru

Andrey N. Odireev, MD, PhD, D.Sc. (Med.), Head of Laboratory of Prophylaxis of Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: bulletin.fpd@mail.ru

Инна Викторовна Довжикова, д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: dov_kova100@rambler.ru

Inna V. Dovzhikova, PhD, D.Sc. (Biol.), Leading Staff Scientist, Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: dov_kova100@rambler.ru

Владимир Петрович Самсонов, д-р мед. наук, профессор, главный научный сотрудник, лаборатория профилактики неспецифических заболеваний легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: dncfpd@dncfpd.ru

Vadimir P. Samsonov, MD, PhD, D.Sc. (Med.), Professor, Main Staff Scientist, Laboratory of Prophylaxis of Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: dncfpd@dncfpd.ru

*Поступила 30.07.2020
Принята к печати 12.08.2020*

*Received July 30, 2020
Accepted August 12, 2020*

УДК 57.086.82:612.112.7:612.112.95

DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-128-134

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УСЛОВИЙ ВЫДЕЛЕНИЯ МОНОЦИТОВ МЕТОДОМ АДГЕЗИИ ДЛЯ ЭКСПЕРИМЕНТОВ *IN VITRO*

Д.А.Гассан, О.О.Котова, Д.Е.Наумов, И.Ю.Сугайло, Я.Г.Горчакова, А.А.Синюк

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

РЕЗЮМЕ. Введение. Моноциты и макрофаги – клетки, играющие важнейшую роль в работе системы врожденного иммунитета, также могут быть вовлечены в патологический процесс при различных заболеваниях. По этой причине исследование функциональной активности данных клеток *in vitro* представляет большой научный интерес. Литературные данные указывают на большое разнообразие методов, используемых для выделения культуры первичных моноцитов, но применяемые подходы часто оказываются противоречивыми. **Цель.** Провести сравнительный анализ влияния различных условий на эффективность адгезии моноцитов для определения наиболее оптимального сочетания факторов, обеспечивающих наибольший выход и чистоту получаемых клеток. **Материалы и методы.** Периферическую венозную кровь получали от 6 здоровых добровольцев. Мононуклеары периферической крови (МПК) выделяли стандартным методом центрифугирования на градиенте плотности фиколла (1,077 г/мл). После центрифугирования МПК помещали в лунки 24-луночного планшета, покрытые коллагеном либо без покрытия, и инкубировали в течение 2 или 24 часов в среде RPMI-1640, содержащей 10% эмбриональную телячью (FCS) или собственную сыворотку донора (AHS). Число прикрепившихся моноцитов оценивали методом эпифлуоресцентной микроскопии после окраски Hoechst 33342 с автоматическим подсчетом ядер в десяти полях зрения. **Результаты.** Установлено, что инкубация клеток в течение 2 часов в лунках без покрытия в присутствии 10% FCS позволяет получать наибольшее количество моноцитов с чистотой 80,9 (66,5-89,1)%. Число моноцитов, полученных адгезией в коллагенированных лунках имело тенденцию быть ниже, независимо от типа используемой сыворотки. В нашем эксперименте способность моноцитов к адгезии существенно снижалась при использовании комбинации непокрытого пластика и 10% AHS. Пролонгированное до 24 часов время инкубации сопровождалось значимым снижением числа прикрепившихся моноцитов в большинстве случаев. **Заключение.** Инкубация МПК в течение 2 часов на культуральном пластике без покрытия в присутствии 10% FCS обеспечивает наибольший выход и чистоту получаемых моноцитов по сравнению с другими протестированными условиями.

Ключевые слова: моноциты, макрофаги, адгезия, воспаление.

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF MONOCYTES ISOLATION CONDITIONS BY ADHESION METHOD FOR *IN VITRO* EXPERIMENTS

D.A.Gassan, O.O.Kotova, D.E.Naumov, I.Yu.Sugaylo, Y.G.Gorchakova, A.A.Sinyuk

Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

SUMMARY. Introduction. Monocytes and macrophages are cells that play an important role in the function of the innate immune system and may be involved in the pathological process in various diseases. For this reason, *in vitro* studies of the functional activity of these cells are of great scientific interest. The literature indicates a large number of methods used to isolate primary monocytes but the approaches are often controversial. **Aim.** To perform a comparative analysis of

Контактная информация

Дина Анатольевна Гассан, канд. мед. наук, научный сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22; E-mail: e-mail: dani-shi@mail.ru

Correspondence should be addressed to

Dina A. Gassan, MD, PhD (Med.), Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation. E-mail: e-mail: dani-shi@mail.ru

Для цитирования:

Гассан Д.А., Котова О.О., Наумов Д.Е., Сугайло И.Ю., Горчакова Я.Г., Синюк А.А. Сравнительная характеристика условий выделения моноцитов методом адгезии для экспериментов *in vitro* // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2020. Вып.78. С. 128–134. DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-128-134

For citation:

Gassan D.A., Kotova O.O., Naumov D.E., Sugaylo I.Yu., Gorchakova Y.G., Sinyuk A.A. Comparative characteristics of monocytes isolation conditions by adhesion method for *in vitro* experiments. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* = *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2020; (78):128–134 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2020-78-128-134

the influence of various conditions on monocytes adhesion efficiency to determine the most optimal combinations of factors providing the highest yield and purity of the obtained cells. **Materials and methods.** Peripheral venous blood samples were obtained from 6 healthy volunteers. Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were isolated by standard centrifugation on Ficoll density gradient (1.077 g/ml). After the centrifugation, PBMC were plated in wells of a 24-well plate, coated with collagen or uncoated, and incubated for 2 or 24 hours in RPMI-1640 medium containing 10% fetal calf (FCS) or autologous human serum (AHS). The number of attached monocytes was assessed by epifluorescence microscopy after staining with Hoechst 33342 with automatic counting of nuclei in ten fields of view. **Results.** It has been established that incubation of cells for 2 hours in wells without coating in the presence of 10% FCS allows obtaining the largest number of monocytes with median purity of 80.9 (66.5-89.1)%. The number of monocytes obtained by adhesion in collagen-coated wells tended to be lower, regardless of the type of serum used. In our experiment, the adhesion capacity of monocytes was reduced when cells were plated in uncoated wells with 10% AHS. Extended to 24 hours incubation time was accompanied by a significant decrease in the number of attached monocytes in most cases. **Conclusion.** Incubation of PBMC for 2 hours on uncoated tissue culture plastic in the presence of 10% FCS provides the highest yield and purity of monocytes in comparison with other tested conditions.

Key words: monocytes, macrophages, adhesion, inflammation.

Моноциты и макрофаги являются ключевыми клетками, формирующими первичную иммунную защиту организма от микробных патогенов и опухолевых клеток, но одновременно могут быть вовлечены в формирование многих патологических процессов, и потому представляют большой интерес для изучения в условиях как *in vitro*, так и *in vivo* [1]. Известно, что наряду с резидентными популяциями макрофагов, самоподдерживающимися в различных органах и тканях, данные клетки также могут дифференцироваться из моноцитов, вышедших в ткани из периферического кровотока. Макрофаги характеризуются функциональной и структурной гетерогенностью, которая зависит от степени их созревания, локализации и условий микроокружения, в частности, от наличия и концентрации различных активирующих стимулов. Традиционно, активированные макрофаги классифицируют на классические (M1) и альтернативно-активированные (M2). Классические макрофаги представляют собой иммунные эффекторные клетки с реактивным воспалительным фенотипом, они очень агрессивны по отношению к бактериям и производят большое количество лимфокинов. Альтернативно активированные макрофаги являются противовоспалительными, выполняют важную роль в регуляции иммунитета, поддержании иммунологической толерантности и восстановлении тканей, заживлении ран. Макрофаги демонстрируют необычайную пластичность в ответ на эндогенные и экзогенные стимулы [2]. Показано, что M1 макрофаги при определенных условиях могут превращаться в M2 макрофаги и наоборот [3].

Резидентные макрофаги человека трудно выделить из ткани в достаточном количестве, и, кроме того, они плохо пролиферируют в культуре. На этом фоне, макрофаги, полученные из моноцитов, представляют собой удобную альтернативу, поскольку моноциты периферической крови легко доступны для получения в больших количествах и могут быть дифференцированы в макрофаги *in vitro*.

В настоящее время существуют несколько основных способов выделения моноцитов, при этом каждый из них подразумевает выполнение предварительного

этапа для получения мононуклеаров периферической крови (МПК). Начиная с 1968 года с этой целью широко используется метод центрифугирования на градиенте плотности фикола [4]. Благодаря тому, что среди всех клеток, лимфоциты и моноциты имеют наименьшую плотность (<1,077 г/мл), использование фикола с плотностью 1,077 г/мл позволяет изолировать данные клетки от других форменных элементов крови. Таким образом, после центрифугирования, МПК остаются в верхней фракции, а эритроциты и полиморфно-ядерные нейтрофилы формируют нижние фракции. Учитывая трудоемкость оригинального метода и наличие требований к квалификации персонала, в последнее время были разработаны коммерческие наборы, такие как СРТ или SepMate, существенно ускоряющие и облегчающие процесс выделения, прежде всего, за счет использования дополнительных барьеров, исключающих перемешивание МПК с другими клеточными фракциями в процессе выполнения методики [5].

После выделения МПК, следующим этапом производят обогащение фракции моноцитов. На сегодняшний день для этого используют несколько основных подходов, отличающихся друг от друга по степени обогащения, жизнеспособности клеток и стоимости. Среди них: метод обогащения путем адгезии к пластику, метод центрифугирования на градиенте перколла и метод магнитной сепарации с позитивной или негативной селекцией клеток. Тогда как более совершенные подходы с разделением лимфоцитов и моноцитов с помощью дополнительного центрифугирования с перколлом или магнитной сепарации отличаются высокой чистотой получаемых клеток [6,7], обогащение методом адгезии является более доступным ввиду минимальных финансовых затрат [8]. Тем не менее, результативность выделения моноцитов методом адгезии к пластику подвержена существенной вариабельности в зависимости от условий, включая тип используемого пластика, наличие различных покрытий (сыворотка, фибронектин, желатин, коллаген) либо их отсутствие, тип сыворотки и время инкубации. Учитывая данный факт, целью настоящего исследования был сравнительный анализ условий адгезии моно-

цитов для определения наиболее оптимального сочетания факторов, обеспечивающих наибольший выход и чистоту получаемых клеток.

Материалы и методы исследования

В исследование были включены шесть здоровых добровольцев в возрасте 26-35 лет. При проведении исследования руководствовались принципами Хельсинкской декларации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов исследования» с поправками 2013 г. и нормативными документами «Правила надлежащей клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом №200н от 01.04.2016 МЗ РФ. Все лица подписывали информированное согласие на участие в исследовании в соответствии с протоколом, одобренным локальным Комитетом по биомедицинской этике.

Венозную кровь в объеме 9 мл собирали в вакуумные пробирки, содержащие K_3EDTA . Для изоляции лейкоцитов, кровь предварительно центрифугировали в течение 15 минут при 1000g. Лейкоцитарные клетки в объеме около 3 мл переносили в стерильную центрифужную пробирку. К отобраным клеткам добавляли фосфатно-солевой буфер (ФСБ) до конечного объема 9 мл и перемешивали. В новой пробирке объемом 15 мл полученную суспензию медленно наслаивали на 3 мл фиколла с плотностью 1,077 г/мл (ООО «Биолот», Россия), и затем центрифугировали при 400g в течение 40 минут при температуре 23°C. Верхнюю часть плазмы удаляли, оставляя над интерфазой, содержащей МПК, 1-2 мл. Через оставшийся слой плазмы в стерильную коническую пробирку объемом 15 мл отбирали МПК. Для удаления тромбоцитов полученные клетки трижды отмывали, добавляя стерильный ФСБ до полного объема пробирки, и осаждая центрифугированием при 150g 10 минут. После третьей отмывки супернатант декантировали и ресуспендировали осадок в 1 мл среды RPMI-1640 (Sigma Chemical Co., Германия). Подсчет клеток и оценку жизнеспособности с трипановым синим выполняли на автоматическом счетчике Luna-II (Logos Biosystems, Южная Корея). Полученные клетки рассевали в лунки 24-луночного культурального планшета (Corning Inc., США), содержащие 500 мкл RPMI-1640 с 1% пенициллина/стрептомицина, в количестве 5×10^5 клеток на лунку. В ходе эксперимента тестировали влияние различных комбинаций таких факторов, как тип сыворотки (10% эмбриональная телячья (FCS) либо аутологичная сыворотка (AHS)), наличие коллагенового покрытия лунок и время инкубации (2 и 24 часа), на адгезию клеток. В экспериментах использовали инактивированную нагреванием до 56°C в течение 30 минут FCS и нативную AHS, полученную центрифугированием при 2300g в течение 15 минут цельной крови, отобранной в вакуумные пробирки с активатором свертывания. Раствор коллагена I типа (ООО «Биолот», Россия) вно-

сили в лунки в конечной концентрации 0,5 мг/мл в объеме 300 мкл, выдерживали 2 часа при 37°C, после чего раствор удаляли, а лунки высушивали в ламинарном шкафу и трижды промывали ФСБ. Клетки выдерживали в инкубаторе CB53 (Binder, Германия) при 37°C в атмосфере с 5% CO_2 в течение 2 или 24 часов.

После окончания инкубации прикрепившиеся клетки дважды отмывали ФСБ, после чего окрашивали ядра красителем Hoechst 33342 (Thermo Fisher Scientific, США) в концентрации 5 мкг/мл в течение 10 минут. Микроскопию выполняли с помощью системы визуализации EVOS M5000 (Thermo Fisher Scientific, США) в режиме эпифлуоресценции на канале DAPI при 10× увеличении. Подсчет клеток в каждой лунке проводили в десяти полях зрения в автоматическом режиме с помощью встроенного программного обеспечения. Благодаря более крупному размеру ядер моноцитов было возможно проводить их отдельный подсчет, исключая контаминирующие лимфоциты. Данный способ был предварительно верифицирован методом проточной цитометрии на цитофлуориметре BD FACSCanto II (Becton Dickinson, США) с окраской клеток моноклональными антителами к CD14, конъюгированными с FITC (Becton Dickinson, США).

Статистические расчеты выполняли в программном пакете Statistica 12.0 (StatSoft, Inc., США). Все данные представлены в формате Me (Q1-Q3) – медиана и межквартильный интервал. Оценку значимости межгрупповых различий для количественных переменных выполняли с помощью критерия U Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Жизнеспособность клеток после выделения во всех случаях составляла более 95%. Экспериментально было установлено, что пролонгированная инкубация в течение 24 часов не сопровождается увеличением числа прикрепившихся моноцитов. Напротив, при любых условиях, кроме инкубации в лунках без покрытия в присутствии AHS, количество прикрепленных клеток достоверно снижалось спустя 24 часа. При этом инкубация в лунках без покрытия в присутствии AHS не сопровождалась значимым изменением эффективности прикрепления клеток в зависимости от времени (рис. 1).

Количество моноцитов после инкубации в течение 2 часов с 10% FCS в лунках без покрытия имело тенденцию быть выше, по сравнению с коллагенированными лунками, содержащими 10% FCS (599,0 (469,0-909,0) против 540,0 (285,0-787,0), $p=0,1$), а также в сравнении с коллагенированными лунками, содержащими 10% AHS (599,0 (469,0-909,0) против 532,0 (318,0-772,0), $p=0,09$). При этом, в случае наличия коллагенового покрытия, тип используемой сыворотки не играл роли – число моноцитов в соответствующих лунках было приблизительно одинаковым. Вне зависимости от времени инкубации, в лунках без покрытия,

содержащих 10% AHS, отмечалось существенно меньшее количество клеток, в сравнении с прочими экспериментальными условиями.

Процент моноцитов среди общего числа прикрепившихся клеток также значимо снижался при пролонгированной инкубации, за исключением лунок без покрытия, содержащих 10% AHS, где он оставался стабильно низким, вне зависимости от времени (рис. 2).

Наиболее высокое относительное содержание моноцитов обнаруживалось в лунках без покрытия, содержащих 10% FCS (80,9 (66,5-89,1)%), тогда как в коллагенированных лунках, содержащих 10% FCS или AHS, а также в лунках без покрытия с 10% AHS доля моноцитов была значимо ниже (66,9 (57,2-83,1)%, $p=0,004$; 59,5 (48,4-74,6)%, $p<0,001$; 47,2 (34,7-82,9)%, $p<0,001$, соответственно).

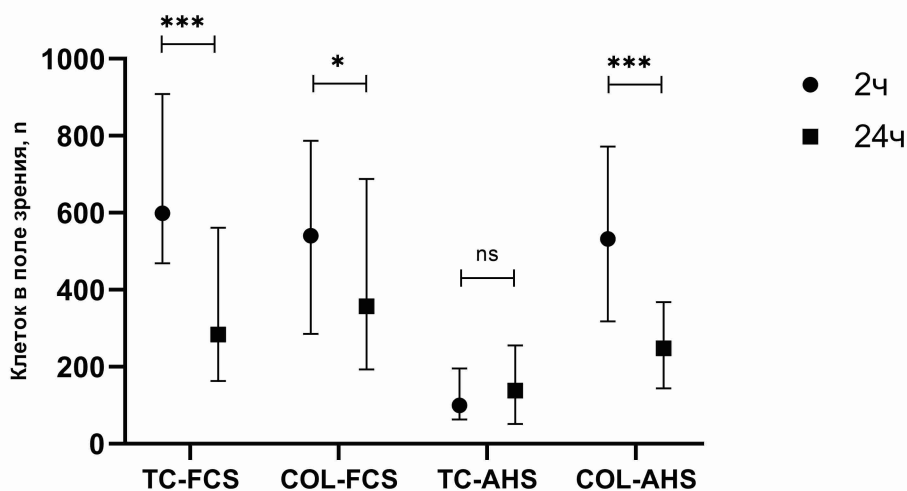


Рис. 1. Абсолютное количество прикрепившихся моноцитов в поле зрения спустя 2 и 24 часа инкубации в непокрытых лунках (TC) либо в лунках, покрытых коллагеном (COL), в присутствии 10% эмбриональной телячьей (FCS) либо аутологичной (AHS) сыворотки. Значимость различий: * – $p<0,05$, *** – $p<0,001$, ns – $p>0,05$.

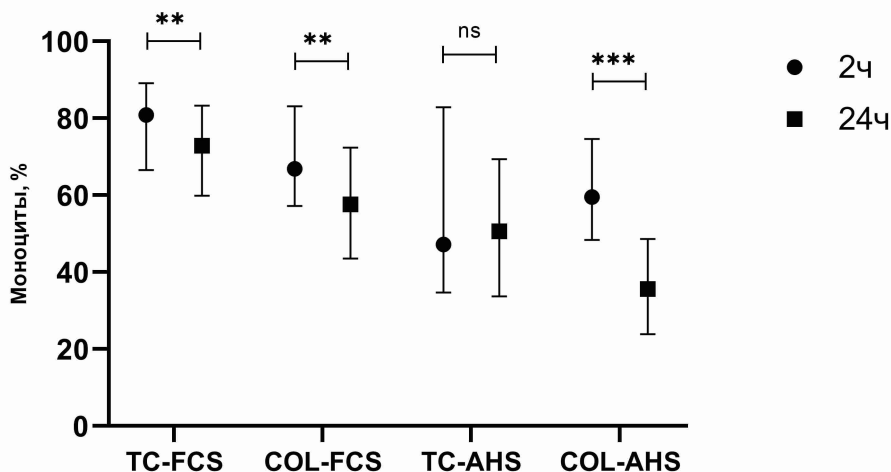


Рис. 2. Относительная доля моноцитов среди всех прикрепившихся клеток в поле зрения спустя 2 и 24 часа инкубации в непокрытых лунках (TC) либо в лунках, покрытых коллагеном (COL), в присутствии 10% эмбриональной телячьей (FCS) либо аутологичной (AHS) сыворотки. Значимость различий: ** – $p<0,01$, *** – $p<0,001$, ns – $p>0,05$.

Таким образом, мы подтвердили, что традиционные условия выделения моноцитов методом адгезии являются наиболее оптимальными. Двухчасовой инкубации МПК в непокрытых лунках, содержащих среду с 10% FCS, достаточно для получения наибольшего числа моноцитов с приемлемой чистотой, в сравнении с прочими протестированными условиями. Тем не менее, в литературных данных встречаются свидетель-

ства о преимуществах альтернативных протоколов адгезионного выделения моноцитов. Так, M.Saghaeian-Jazi et al. [9] практиковали адгезию моноцитов в лунках, покрытых желатином или плазмой крови в присутствии 0,5% инактивированной аллогенной человеческой сыворотки. Дальнейшее культивирование клеток в среде, содержащей 10% инактивированную человеческую сыворотку от донора с IV(AB) группой

крови в наименьшей степени влияло на жизнеспособность клеток, по сравнению со средой с добавлением 10% FCS. В работе D.Schmidt et al. [10] авторы также исследовали вопрос потенциального влияния ксенопротеинов FCS на способность моноцитов к адгезии. В результате было установлено, что использование 10% AHS, по сравнению с 10% нативной FCS, улучшает адгезию на активированном полистироле в 3 раза и в 8-10 раз на гидрогеле из полиэтиленгликоля. Данные различия отмечались как после 2, так и после 24 часов инкубации. В настоящее время не существует однозначного мнения о необходимости температурной инактивации FCS перед использованием. В теории, потребность в проведении инактивации обусловлена содержанием в сыворотке компонентов системы комплемента, негативно влияющих на жизнеспособность клеток. Однако, по некоторым данным, содержание комплемента в FCS достаточно мало, чтобы вызвать значимые эффекты. Кроме того, нагревание может приводить к разрушению полезных факторов и нутриентов, необходимых для клеточного роста [11]. Тем не менее, в ходе выполнения предварительных экспериментов нами было установлено, что использование нативной FCS сопровождается появлением признаков клеточной деструкции и апоптоза. Таким образом, не исключено, что выявленные различия могли являться следствием негативного влияния не инактивированной FCS, а не отражать действительные преимущества аутологичной сыворотки.

Y.Koyama et al. [12] исследовали влияние различных покрытий на прикрепление макрофагов, дифференцированных из монобластов U937 в присутствии 10% FCS и форбол-12-миристан-13-ацетата. Результат оценивали через 1 и 3 дня. Как и в настоящей работе, наилучшей была адгезия макрофагов к пластику без покрытия. Средняя степень адгезии отмечалась при покрытии лунок бычьим сывороточным альбумином или фибронектином. При этом коллагеновый субстрат препятствовал прочному прикреплению клеток вне зависимости от типа коллагена – клетки формировали агрегаты и легко смывались пипетированием. В другом исследовании была выполнена оценка эффективности адгезии моноцитов на коллагеновые субстраты в краткосрочной динамике [13]. В отличие от вышеприведенной работы, авторы регистрировали ход процесса в бессывороточных условиях и обнаружили ускоренную динамику прикрепления моноцитов к коллагену с выходом на плато приблизительно через 1 час, тогда как в контрольных лунках, покрытых бычьим сывороточным альбумином, плато с аналогичным уровнем адгезии достигалось лишь через 3 часа. Также было установлено, что взаимодействие моноцитов с коллагеном опосредовано интегрином $\alpha X \beta 2$, состоящим из

субъединиц CD11c и CD18. Определенное влияние на эффективность адгезии моноцитов к коллагену может играть возраст донора. В экспериментальной модели с использованием полимерных микрофлюидных ячеек изучали эффективность адгезии суспензии моноцитов в среде RPMI-1640, содержащей 10% FCS [14]. При этом, моноциты, полученные от доноров старшей возрастной группы (44-73 года), демонстрировали значимо лучшую адгезию к коллагену, по сравнению с клетками более молодых лиц (24-36 лет). Независимо от возраста, число прикрепившихся клеток было выше в камерах с коллагеновым покрытием, чем в непокрытых ячейках.

Как видно, проблема изучения способности к адгезии моноцитов и макрофагов в зависимости от различных условий далека от своего окончательного решения. Исследования, выполненные в данной области, отличаются крайне разнообразным экспериментальным дизайном – объектом исследования выступают как клеточные линии, так и первичные клетки, выделение которых производят различными способами. Вариабельность в результаты экспериментов также, по-видимому, вносит разный возраст доноров, тип используемого пластика, индивидуальные особенности биохимического состава используемой сыворотки. В настоящем исследовании мы установили, что использование культурального пластика без покрытия с одновременным добавлением в среду 10% инактивированной FCS, является наиболее предпочтительным для выделения моноцитов методом адгезии с точки зрения количества и чистоты получаемой популяции клеток. Использование коллагенового покрытия нивелирует эффекты от использования различных типов и сопровождается некоторым снижением количества прикрепившихся клеток. Использование среды с 10% AHS без коллагенового субстрата не рекомендуется, поскольку не обеспечивает надежной адгезии клеток для последующего культивирования. Двухчасовая инкубация является достаточной для адгезии моноцитов из суспензии МПК, продолжительное время инкубации (24 часа) приводит к самопроизвольному откреплению клеток и снижению эффективности метода.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Источники финансирования

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

1. Murray P.J., Wynn T.A. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets // Nat. Rev. Immunol. 2011. Vol.11, №11. P.723–737. doi: 10.1038/nri3073

2. Bikash T., Keunwook L. Metabolic influence on macrophage polarization and pathogenesis // *BMB Rep.* 2019. Vol.52, №6. P.360–372. doi: 10.5483/BMBRep.2019.52.6.140
3. Tarique A.A., Logan J., Thomas E., Holt P.G., Sly P.D., Fantino E. Phenotypic, functional, and plasticity features of classical and alternatively activated human macrophages // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2015. Vol.53, №5. P.676–88. doi: 10.1165/rcmb.2015-0012OC
4. Böyum A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Isolation of mononuclear cells by one centrifugation, and of granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1 g // *Scand. J. Clin. Lab. Invest. Suppl.* 1968. Vol.97. P.77–89.
5. Grievink H.W., Luisman T., Kluft C., Moerland M., Malone K.E. Comparison of Three Isolation Techniques for Human Peripheral Blood Mononuclear Cells: Cell Recovery and Viability, Population Composition, and Cell Functionality // *Biopreserv. Biobank.* 2016. Vol.14, №5. P.410–415. doi: 10.1089/bio.2015.0104
6. Nielsen M.C., Andersen M.N., Møller H.J. Monocyte isolation techniques significantly impact the phenotype of both isolated monocytes and derived macrophages in vitro // *Immunology.* 2020. Vol.159, №1. P.63–74. doi: 10.1111/imm.13125
7. Meital L.T., Coward A.S., Windsor M.T., Bailey T.G., Kuballa A., Russell F.D. A simple and effective method for the isolation and culture of human monocytes from small volumes of peripheral blood // *J. Immunol. Methods.* 2019. Vol.472. P.75–78. doi: 10.1016/j.jim.2019.04.005
8. Treves A.J., Yagoda D., Haimovitz A., Ramu N., Rachmilewitz D., Fuks Z. The isolation and purification of human peripheral blood monocytes in cell suspension // *J. Immunol. Methods.* 1980. Vol.39, №1-2. P.71–80. doi: 10.1016/0022-1759(80)90295-1
9. Saghaeian-Jazi M., Mohammadi S., Sedight S. Culture and Differentiation of Monocyte Derived Macrophages Using Human Serum: An Optimized Method // *Zahedan J. Res. Med. Sci.* 2016. Vol.18, №6. P.e7362. doi: 10.17795/zjrms-7362.
10. Schmidt D., Joyce E.J., Kao W.J. Fetal bovine serum xenoproteins modulate human monocyte adhesion and protein release on biomaterials in vitro // *Acta Biomater.* 2011. Vol.7, №2. P.515–525. doi: 10.1016/j.actbio.2010.08.022
11. Look N. Heat inactivation – are you wasting your time? // *Art to Science (HyClone Newsletter).* 1996. Vol.15. P.1–5.
12. Koyama Y., Norose-Toyoda K., Hirano S., Kobayashi M., Ebihara T., Someki I., Fujisaki H., Irie S. Type I collagen is a non-adhesive extracellular matrix for macrophages // *Arch. Histol. Cytol.* 2000. Vol.63, №1. P.71–79. doi: 10.1679/aohc.63.71
13. Garnotel R., Rittié L., Poitevin S., Monboisse J.C., Nguyen P., Potron G., Maquart F.X., Randoux A., Gillery P. Human blood monocytes interact with type I collagen through alpha x beta 2 integrin (CD11c-CD18, gp150-95) // *J. Immunol.* 2000. Vol.164, №11. P.5928–5934. doi: 10.4049/jimmunol.164.11.5928
14. Khalaji S., Zondler L., KleinJan F., Nolte U., Mulaw M.A., Danzer K.M., Weishaupt J.H., Gottschalk K.E. Age Increases Monocyte Adhesion on Collagen // *Sci. Rep.* 2017. Vol.7. P.46532. doi: 10.1038/srep46532

REFERENCES

1. Murray P.J., Wynn T.A. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. *Nat. Rev. Immunol.* 2011; 11(11):723–737. doi: 10.1038/nri3073
2. Bikash T., Keunwook L. Metabolic influence on macrophage polarization and pathogenesis. *BMB Rep.* 2019; 52(6):360–372. doi: 10.5483/BMBRep.2019.52.6.140
3. Tarique A.A., Logan J., Thomas E., Holt P.G., Sly P.D., Fantino E. Phenotypic, functional, and plasticity features of classical and alternatively activated human macrophages. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2015; 53(5):676–88. doi: 10.1165/rcmb.2015-0012OC
4. Böyum A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Isolation of mononuclear cells by one centrifugation, and of granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1 g. *Scand. J. Clin. Lab. Invest. Suppl.* 1968; 97:77–89.
5. Grievink H.W., Luisman T., Kluft C., Moerland M., Malone K.E. Comparison of Three Isolation Techniques for Human Peripheral Blood Mononuclear Cells: Cell Recovery and Viability, Population Composition, and Cell Functionality. *Biopreserv. Biobank.* 2016; 14(5):410–415. doi: 10.1089/bio.2015.0104
6. Nielsen M.C., Andersen M.N., Møller H.J. Monocyte isolation techniques significantly impact the phenotype of both isolated monocytes and derived macrophages in vitro. *Immunology* 2020; 159(1):63–74. doi: 10.1111/imm.13125
7. Meital L.T., Coward A.S., Windsor M.T., Bailey T.G., Kuballa A., Russell F.D. A simple and effective method for the isolation and culture of human monocytes from small volumes of peripheral blood. *J. Immunol. Methods* 2019; 472:75–78. doi: 10.1016/j.jim.2019.04.005
8. Treves A.J., Yagoda D., Haimovitz A., Ramu N., Rachmilewitz D., Fuks Z. The isolation and purification of human peripheral blood monocytes in cell suspension. *J. Immunol. Methods* 1980; 39(1-2):71–80. doi: 10.1016/0022-1759(80)90295-1

9. Saghaeian-Jazi M., Mohammadi S., Sedight S. Culture and Differentiation of Monocyte Derived Macrophages Using Human Serum: An Optimized Method. *Zahedan J. Res. Med. Sci.* 2016; 18(6):e7362. doi: 10.17795/zjrms-7362
10. Schmidt D., Joyce E.J., Kao W.J. Fetal bovine serum xenoproteins modulate human monocyte adhesion and protein release on biomaterials in vitro. *Acta Biomater.* 2011; 7(2):515–525. doi: 10.1016/j.actbio.2010.08.022
11. Look N. Heat inactivation – are you wasting your time? *Art to Science (HyClone Newsletter)* 1996; 15:1–5.
12. Koyama Y., Norose-Toyoda K., Hirano S., Kobayashi M., Ebihara T., Someki I., Fujisaki H., Irie S. Type I collagen is a non-adhesive extracellular matrix for macrophages. *Arch. Histol. Cytol.* 2000; 63(1):71–79. doi: 10.1679/aohc.63.71
13. Garnotel R., Rittié L., Poitevin S., Monboisse J.C., Nguyen P., Potron G., Maquart F.X., Randoux A., Gillery P. Human blood monocytes interact with type I collagen through alpha x beta 2 integrin (CD11c-CD18, gp150-95). *J. Immunol.* 2000; 164(11):5928–5934. doi: 10.4049/jimmunol.164.11.5928
14. Khalaji S., Zondler L., KleinJan F., Nolte U., Mulaw M.A., Danzer K.M., Weishaupt J.H., Gottschalk K.E. Age Increases Monocyte Adhesion on Collagen. *Sci. Rep.* 2017; 7:46532. doi: 10.1038/srep46532

Информация об авторах:

Дина Анатольевна Гассан, канд. мед. наук, научный сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: dani-shi@mail.ru

Олеся Олеговна Котова, младший научный сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: foxy_voxy_on@mail.ru

Денис Евгеньевич Наумов, канд. мед. наук, зав. лабораторией, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: denn1985@bk.ru

Ивана Юрьевна Сугайло, лаборант-исследователь, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: ivanka_888@mail.ru

Яна Геннадьевна Горчакова, лаборант-исследователь, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: yana.janet.gorchakova@gmail.com

Анастасия Андреевна Синуяк, младший научный сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: amur.asua@gmail.com

Author information:

Dina A. Gassan, MD, PhD (Med.), Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: dani-shi@mail.ru

Olesya O. Kotova, MD, Junior Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: foxy_voxy_on@mail.ru

Denis E. Naumov, MD, PhD (Med.), Head of Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: denn1985@bk.ru

Ivana Yu. Sugaylo, Assistant Researcher, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: ivanka_888@mail.ru

Yana G. Gorchakova, Assistant Researcher, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: yana.janet.gorchakova@gmail.com

Anastasia A. Sinyuk, MD, Junior Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: amur.asua@gmail.com

Поступила 16.11.2020
Принята к печати 30.11.2020

Received November 16, 2020
Accepted November 30, 2020

УДК 616.24-002:616.98:578.834.1Coronavirus(048.8)

DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-135-146

ОСОБЕННОСТИ ПНЕВМОНИЙ, ВЫЗВАННЫХ НОВЫМ КОРОНАВИРУСОМ SARS-COV-2 (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Е.А.Базыкина, О.Е.Троценко

Федеральное бюджетное учреждение науки «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 680610, г. Хабаровск, ул. Шевченко, 2

РЕЗЮМЕ. Цель. Проведен анализ научных публикаций по вопросам основ патогенеза, лабораторной и рентгенологической картины пневмоний, а также аспектов ко-инфицирования у больных с COVID-19. **Результаты.** В основе патогенеза COVID-19 лежит поражение альвеолоцитов, а также других органов (почки, сердце и др), несущих на мембранах клеток ангиотензиновые рецепторы 2 типа. Характерно формирование «цитокинового шторма», ДВС-синдрома, лежащих в основе острого дистресс-синдрома легких с высокой вероятностью летального исхода. Помимо патологических процессов, ухудшающих прогноз заболевания, связанных с дисрегуляцией гомеостаза, значительный вклад в утяжеление исхода заболевания вносит возникновение ко-инфекции бактериальной, вирусной и грибковой этиологии. Важным аспектом лабораторной диагностики пневмоний, вызванных SARS-CoV-2, является адекватный выбор биологического материала для анализа. Так, для диагностики методом ПЦР биологическим материалом выбора становятся образцы мокроты, или предпочтительнее – бронхоальвеолярного лаважа, которые дают значительно меньше ложноотрицательных результатов, и лишь в случае их отсутствия обоснован забор мазков из носо- и ротоглотки. Помимо лабораторной диагностики новой коронавирусной инфекции эффективным является применение компьютерной томографии легких, которая на ранних стадиях заболевания оказывается более чувствительной по сравнению с исследованием респираторных мазков методом ПЦР. Наиболее частыми рентгенологическими находками служат периферические округлые очаги по типу матового стекла, визуализируемые в обоих легких чаще в нижних долях, а также симптом «ореола» или «гало». **Заключение.** Для наиболее эффективной диагностики пневмоний, вызванных SARS-CoV-2, наряду со сбором эпидемиологического анамнеза обоснована необходимость применения как лабораторных, так и лучевых методов диагностики.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, пневмония, полимеразная цепная реакция, компьютерная томография, ко-инфекция.

PECULIARITIES OF COMMUNITY ACQUIRED PNEUMONIA TRIGGERED BY NOVEL CORONAVIRUS SARS-COV-2 (REVIEW)

Е.А.Базыкина, О.Е.Троценко

Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 2 Shevchenko Str., Khabarovsk, 680610, Russian Federation

SUMMARY. Aim. Analysis of scientific publications related to issues concerning basics of pathogenesis, laboratory diagnosis and radiological patterns as well as co-infection peculiarities in patients with COVID-19 was performed. **Results.** The pathogenesis of COVID-19 is based on injury of alveolocytes and other organs (kidneys, heart and other) that have angiotensin II receptors on the cell membrane. “Cytokine storm”, disseminated intravascular coagulation syndrome that are at the basis of acute respiratory distress syndrome pathogenesis with a high probability of death are common in patients

Контактная информация

Елена Анатольевна Базыкина, младший научный сотрудник, лаборатория эпидемиологии и профилактики вирусных гепатитов и СПИД, Федеральное бюджетное учреждение науки «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 680610, Россия, г. Хабаровск, ул. Шевченко, 2. E-mail: alyonaf@yandex.ru

Correspondence should be addressed to

Elena A. Bazykina, Junior Staff Scientist, Laboratory of Epidemiology and Prevention of Viral Hepatitis and AIDS, Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 2 Shevchenko Str., Khabarovsk, 680610, Russian Federation. E-mail: alyonaf@yandex.ru

Для цитирования:

Базыкина Е.А., Троценко О.Е. Особенности пневмоний, вызванных новым коронавирусом SARS-CoV-2 (обзор литературы) // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2020. Вып.78. С. 135–146. DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-135-146

For citation:

Bazykina E.A., Trotsenko O.E. Peculiarities of community acquired pneumonia triggered by novel coronavirus SARS-CoV-2 (review). *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2020; (78):135–146 (in Russian). DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-135-146

with COVID-19. Apart of homeostasis dysregulation, emerging coinfection of bacterial, viral and fungal etiology notably deteriorates the disease. Biological material is a key aspect in accurate laboratory diagnosis of pneumonia caused by SARS-CoV-2. Thus, biological material of choice are sputum or preferably bronchoalveolar lavage that give less false-negative results. Only in case of their absence evaluation of nasopharyngeal swabs via PCR are justified. Apart of laboratory diagnosis of the novel coronavirus disease, computer tomography of lungs is also effective. Computer tomography can be even more sensitive than PCR of nasopharyngeal swabs in early stages of the disease. The most frequent radiographic symptoms are bilateral, basal-predominant, peripheral, round ground glass opacities, halo sign. **Conclusion.** Thereby in order to execute most effective diagnosis of pneumonia, caused by SARS-CoV-2 it is necessary to utilize epidemiological anamnesis alongside with laboratory diagnosis and radiological imaging.

Key words: SARS-CoV-2, pneumonia, polymerase chain reaction, computer tomography, co-infection.

Введение

На протяжении многих столетий человечество не раз сталкивалось с пандемиями. Только в XIX веке летописцами было зарегистрировано 4 пандемии гриппа, а в XX столетии вспыхнула одна из наиболее смертоносных – пандемия гриппа 1918 года, широко известная как «испанка», унесшая около 20 млн жизней [1].

В XXI веке человечество столкнулось с новым, ранее неизвестным возбудителем острого тяжелого респираторного синдрома, вызванного вирусом SARS-CoV-2 [2, 3].

В целом семейство коронавирусов широко распространено как среди людей, так и других позвоночных. В 2003 году на Ближнем Востоке был выявлен вирус, вызывающий острый тяжелый респираторный синдром (SARS-CoV), через 9 лет новая эпидемия была вызвана коронавирусом MERS-CoV [4]. Особенности данных двух эпидемий были более высокие уровни летальности (34,5 и 9,6%, соответственно), а также значительно меньшая трансмиссивность по сравнению с современной пандемией SARS-CoV-2 [5]. Например, индекс репродукции для SARS-CoV-2 (R_0 , репродуктивное число – параметр, характеризующий инфекционность вируса, т.е. число здоровых неиммунных людей, которых может заразить один заболевший) составляет примерно 2,2 (95% ДИ: 1,4–3,9) [5], что оказалось выше, чем R_0 для MERS-CoV (0,45–0,98) [6].

Возбудители вызывают поражение респираторного и гастроинтестинального трактов (энтериты, гепатиты) [7, 8], а также неврологические нарушения у заболевших [9]. По наблюдениям исследователей, наиболее частыми симптомами оказались следующие: повышение температуры тела (98%), кашель (76%), миалгии или повышенная утомляемость (44%). Реже отмечалось отхождение мокроты (28%), головная боль (11%), гемоптитизис или кровохарканье (5%), диарея встречалась лишь в 3% случаев. В ходе прогрессирования инфекционного процесса у всех охваченных наблюдением заболевших развилась пневмония, 32% из которых впоследствии перевели в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ). У 63% инфицированных наблюдалась лимфопения, у 55% пациентов развивалась диспноэ в среднем на 8 день от госпитализации. Среди развившихся осложнений в 29% случаев авторы отмечали респираторный дистресс синдром, вирусемия наблюдалась у 15% заболевших, острое повреждение

миокарда у 12%, вторичная инфекция установлена в 10% случаев [7]. По данным ученых из Китая, проанализировавших течение новой коронавирусной инфекции в Уханьском госпитале для больных COVID-19, в целом были получены сходные данные, а именно: у большинства (98,6%) заболевших регистрировалось повышение температуры тела, повышенная утомляемость (69,6%) и сухой кашель (59,4%). В 26,1% случаев пациенты были переведены в ОРИТ, в основном вследствие развития респираторного дистресс синдрома (61,1%) развивавшегося в среднем на 8 день от госпитализации, реже из-за тяжелых аритмий (44,4%) и шока различной этиологии (30,6%). Пациенты, переведенные в ОРИТ, по сравнению с теми, кто продолжал находиться в общем отделении для пациентов с COVID-19, были более старшего возраста (возрастная медиана 66 лет и 51 год, соответственно), чаще имели сопутствующую патологию (72,2 и 38,3%, соответственно) [7].

Учитывая схожесть симптомов, появляющихся у пациентов с пневмонией, вызванной SARS-CoV-2 и другими типичными возбудителями (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydomphila legionella*) внебольничной пневмонии, врачами-исследователями была поставлена задача – оценить имеющиеся различия клинической симптоматики указанных заболеваний. Так, у пациентов с пневмонией, вызванной SARS-CoV-2, статистически значимо чаще регистрировались: гипертермия (56,58 и 30,43%, соответственно), диспноэ (9,54 и 2,17%, соответственно), значительная утомляемость (10,53 и 3,62%, соответственно), респираторный дистресс-синдром (7,89 и 2,17%, соответственно), а также бессимптомное течение заболевания (12,83 и 4,35%, соответственно). При этом, значительно реже пневмония, этиологически обусловленная вирусом COVID-19, протекала с отхождением мокроты (3,29 и 38,41%, соответственно). Такие симптомы как кашель, боль в горле и диарея встречались одинаково часто [10].

Основными механизмами передачи SARS-CoV-2 являются аэрогенный, реализуемый, как правило, посредством воздушно-капельного пути передачи, и контактный – осуществляемый контактно-бытовым путем [11]. Теоретически возможны фекально-оральный, гемоконтактный и вертикальный пути передачи, так как методом ПЦР РНК вируса была выделена из фекалий [12], мочи [13] и плазмы крови пациентов [14]. Однако,

по данным Всемирной Организации Здравоохранения, официально зарегистрированных случаев передачи заболевания указанными механизмами не установлено [11].

Патогенез

Известно, что для SARS-CoV-2 характерно преимущественное поражение нижних респираторных путей [7]. Молекулярный механизм заражения вирусом на данный момент считается следующим: вирус попадает в бронхиолы и ацинус, взаимодействуя с эпителием бронхов и альвеолоцитами через рецепторы ангиотензина II типа (ATP2), вследствие чего активируется сериновая протеаза TMPRSS2, что ведет к конформационным изменениям белка S, у которого образуются субъединицы S1 и S2, после чего субъединица S2 способствует проникновению РНК вируса в клетку. В ходе репродукции вирусных частиц активируются процессы аутофагии, происходит ослабление связи клеток с базальной мембраной, приводящее к их «слушиванию» [15] и появлению характерной картины при световой микроскопии гистологических препаратов [16]. С физиологической точки зрения вирус приводит к ингибированию экспрессии ATP2, что способствует более частому связыванию ангиотензина с ангиотензиновыми рецепторами I типа, приводя к острому повреждению легочной ткани. Отягчающим течением заболевания фактором также является возможность SARS-CoV-2 ингибировать индукцию интерферонов I и III, к которым вирус чувствителен. Дальнейшая репродукция вируса приводит к инфицированию соседних клеток с последующим поражением других органов и тканей организма, что связано с широким представлением ATP2 в организме человека [15, 17]: например, помимо легких, могут поражаться сердечно-сосудистая система, желудочно-кишечный тракт и почки [18, 19].

В последующем значительно изменяется цитокиновый гомеостаз. Это приводит к цитокиновому «шторму» или «каскаду» [20], что в сочетании с дыхательной недостаточностью, вызванной синтезом фибрина фибробластами с последующим формированием гиалуриновых мембран в тканях легкого, а также повреждением и десквамацией альвеолоцитов 2 типа, считается основным патогенетическим механизмом, приводящим к серьезным нарушениям функции внутренних органов [16].

В наиболее тяжелых случаях заболевания зарегистрированы следующие лабораторные изменения: прогрессирующее повышение уровней IL-6 [20, 21], креатинина, тропонина I [21], увеличение количества нейтрофилов, при этом на поражение легочной ткани особенно сильно влияли уровни С-реактивного белка, концентрации мочевины в крови, лактат-дегидрогеназы и снижение лимфоцитарного пула [21–24]. У пациентов, инфицированных SARS-CoV-2, выраженные изменения претерпевает и свертывающая система. Так,

уровень D-димера значительно повышается [25], что приводит к быстрому развитию коагулопатии, формированию микротромбов, тромбозов, вплоть до возникновения ДВС-синдрома [26]. Причем повышенный уровень D-димера прямо коррелирует с тяжестью процесса и наиболее часто повышается у пациентов с летальным исходом [26, 27].

Методом цитофлуориметрии учеными были выявлены следующие особенности изменения лейкоцитарных фракций у пациентов с пневмонией, вызванной SARS-CoV-2: пропорционально увеличению степени тяжести снижались уровни CD8+, В-клеток, CD4+ лимфоцитов и натуральных киллеров [22], CD3+CD8+ [28], изменялось соотношение CD4+/CD8+ [22]. Более значительное снижение CD8+, CD3+CD8+ и В-клеток, а также увеличение соотношения CD4+/CD8+ были предикторами неблагоприятного исхода пневмонии у инфицированных лиц [22, 28].

Материалы аутопсии пациентов, умерших вследствие COVID-19, показали гистологическую картину диффузного поражения альвеол с периваскулярной инфильтрацией Т-лимфоцитами. Было характерно серьезное повреждение эндотелия, связанное с прямым действием вируса, что подтверждается разрушенными мембранами клеток. Гистологическая картина легочных сосудов выявила обширный тромбоз и микроангиопатию. В альвеолярных капиллярах микротромбоз встречался в 9 раз чаще ($p < 0,001$), а ангиогенез, в основном интерстициальный – в 2,7 раз чаще ($p < 0,001$) у пациентов с COVID-19 по сравнению с умершими от вирусов гриппа [29].

Ко-инфекции

У пациентов с тяжелым течением вирусной пневмонии, вызванной SARS-CoV-2, актуальным является изучение различных вариантов ко-инфицирования, например, бактериальными, грибковыми патогенами [16, 30], а также другими вирусами [31], в особенности при подключении к аппарату искусственной вентиляции легких (ИВЛ). Многие ученые и врачи в проведенных исследованиях показали, что ИВЛ может усугублять прогноз болезни вследствие развития вентилятор-ассоциированных заболеваний [32, 33].

Проведенный мета-анализ свидетельствует, что у пациентов, госпитализированных с новой коронавирусной инфекцией, бактериальная ко-инфекция в целом развивается от 7 [31] до 13,5% [30] случаев, что значительно ниже по сравнению с гриппозными пневмониями (19,5%) [34]. Однако показано, что у пациентов с SARS-CoV-2, находящихся в ОРИТ, бактериальная ко-инфекция развивалась в 3,5 раза чаще, чем у больных, получающих лечение в других общих отделениях – в 14 и 4% случаев, соответственно. Чаще всего ко-инфекция была вызвана *Mycoplasma pneumoniae* (42%), *Pseudomonas aeruginosa* (12%) и *Haemophilus influenzae* (12%) [31].

Ко-инфицирование пациентов с пневмонией, вы-

званной SARS-CoV-2, другими вирусами выявлялось у 3% заболевших, наиболее часто у них изолировали респираторно-синцитиальный вирус (16,9%) и грипп типа А (15,5%) [31, 35]. Были зафиксированы единичные случаи ко-инфицирования грибковыми патогенами, среди которых чаще выделялись *Candida albicans*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* и *Candida glabrata* [30, 31]. Сочетанное инфицирование синегнойной палочкой, а также ко-инфицирование патогенными грибковыми агентами косвенно указывает на значительный вклад внутрибольничного инфицирования вследствие длительной госпитализации пациентов с SARS-CoV-2 [30, 31].

Помимо перечисленных бактериальных возбудителей пневмоний некоторые авторы указывают на роль *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* [36, 37] и *Mycobacterium tuberculosis* [38] в развитии ко-инфекции у пациентов с новой коронавирусной пневмонией, в связи с чем практикующим врачам рекомендовано уделять большое внимание не только диагностике РНК SARS-CoV-2 у больных с признаками поражения легких, но и других патогенов для своевременного назначения наиболее эффективного лечения, что позволит улучшить исход заболевания, так как известно, что ко-инфекция приводит к увеличению летальности [39].

Диагностика

Исследователи из Китайской Народной Республики и Южной Кореи обратили внимание на некоторые клинические и рентгенологические особенности пневмоний, вызванных SARS-CoV-2, по сравнению с обычной внебольничной пневмонией. Например, у пациентов с новой коронавирусной инфекцией отмечены более высокая температура тела и более выраженные признаки диспноэ [40]. При инфицировании SARS-CoV-2 компьютерная томография (КТ) выявляет очаговые изменения рентгенологической картины по типу «матового стекла». Зачастую характерными оказывались единичные очаги размером до сантиметра с картиной «матового стекла», находящиеся вблизи бронхососудистых пучков [40–42]. По данным коллег из Китая наличие очагов по типу «матового стекла» встречалось у 77% пациентов с пневмонией, вызванной SARS-CoV-2, в том числе с уплотнением междолевых перегородок или сетчатым усилением легочного рисунка – в 59% случаев, которое чаще развивалось на 5 день от начала симптомов. Реже регистрировались участки уплотнения легочной ткани (55%). У подавляющего большинства (86%) больных в патологический процесс были вовлечены оба легких, причем чаще поражались задние и периферические сегменты легких. У больных старше 50 лет рентгенологическая картина уплотнения участков легких возникала чаще по сравнению с более молодыми пациентами (45,11 и 23,18%, соответственно). При сравнении с рентгенологической картиной вирусных пневмоний другой этиологии (гриппа

H1N1, H5N1, H7N9) отличительными признаками стали комбинация очагов по типу «матового стекла» с наличием уплотнений, междолевым уплотнением септ и сетчатой деформацией легочного рисунка [42].

Пневмонии, вызванной SARS-CoV-2, присущи вариативность и динамическое изменение рентгенологической картины. На начальном этапе (2-3 день от начала симптомов) инфекционного процесса зачастую регистрируется единичный очаг в периферических отделах легких по типу «матового стекла», который можно принять за новообразование, например, аденокарциному. Показано, что одностороннее поражение легкого в виде единичных участков «матового стекла» в субплевральных отделах легких быстро переходит в неоднородные тени с признаками экссудативного процесса, появляется симптом «булыжной мостовой» [40] с последующим (на 10 день) двусторонним поражением, с дальнейшим развитием инфильтрации и уплотнением долей легких, вплоть до формирования рентгенологической картины фиброза, что может затруднять дифференциальную диагностику с пневмониями, вызванными другими возбудителями [43, 44].

В целом, наиболее типичными рентгенологическими проявлениями COVID-19 при анализе компьютерных томограмм являются периферические очаги по типу «матового стекла», визуализируемые в обоих легких, в том числе округлой формы, также признаком пневмонии может являться симптом «ореола» (или «галло»). Менее характерны мультифокальные, диффузные прикорневые или односторонние очаги по типу «матового стекла» с отсутствием округлой формы, расположенные не на периферии легкого. К нетипичным рентгенологическим признакам можно отнести центробулярные очаги (картина «дерева в почках»), каверны, однородные межлобулярные уплотнения, в том числе с наличием плеврального экссудата. Типичными можно считать следующие изменения на томограмме/рентгенограмме при прогрессировании заболевания: двусторонние признаки уплотнения легочной ткани, утолщение междолевых перегородок, сетчатое усиление легочного рисунка и воздушная бронхограмма. Плевральный выпот и медиастинальная лимфаденопатия встречаются крайне редко и свидетельствуют скорее о пневмонии иной этиологии [45].

Редкими осложнениями пневмонии, вызванной новой коронавирусной инфекцией, можно считать формирование спонтанного пневмомедиастимума (эмфиземы), буллезной эмфиземы и пневмоторакса [46, 47]. Возникновение пневмоторакса может быть связано с диффузным поражением альвеол на фоне воспаления, спровоцированным сильным кашлем, возникающим у пациентов. В свою очередь медиастинальная эмфизема и формирование буллезной эмфиземы имеют сходный патогенез. Так, вследствие патологических изменений в легочной ткани в случае резкого повышения внутриальвеолярного давления происходит их разрыв с определенной вероятностью поступления воздуха в ткани

средостения, что зачастую встречается при прогрессировании заболевания вплоть до возникновения респираторного дистресс-синдрома [46]. Указанные осложнения свидетельствуют о высоком риске неблагоприятного исхода заболевания [47].

При всем этом, дифференциальная диагностика пневмоний, вызванных SARS-CoV-2, остается сложной задачей, несмотря на разработанные алгоритмы ПЦР и лучевых методов диагностики. На начальных этапах пандемии при диагностике пневмонии, обусловленной SARS-CoV-2, преимущественное внимание уделяли эпидемиологическому анамнезу (район проживания, факт посещения неблагоприятных по заболеванию мест, наличие контактов с заболевшими или прибывшими из неблагополучных регионов лицами), что позволяло, в случае получения сомнительных результатов ПЦР при исследовании респираторных мазков, облегчить постановку правильного диагноза [48].

На современном этапе в связи с повсеместным распространением новой коронавирусной инфекции такая этиологическая расшифровка пневмоний в определенных случаях может вызвать затруднения, в том числе у опытного врача-инфекциониста [48, 49]. Так, по данным ряда авторов, установлено, что исследования мазков из носо- и ротоглотки не всегда являются достаточно информативными для своевременного выявления новой коронавирусной инфекции у пациентов с пневмониями [50–52]. Во многих работах показано, что наиболее оптимальным видом биологического материала является мокрота, а в случае ее отсутствия – бронхоальвеолярный лаваж. Однако данная процедура возможна лишь в условиях стационара, в связи с чем отбор мазков из носо- и ротоглотки остается актуальным [51, 52]. Проведенное в Китае исследование показало значимо более высокую долю положительных на РНК SARS-CoV-2 проб мокроты (76,9%) по сравнению с мазками из ротоглотки (44,2%) у больных с подозрением на пневмонию, вызванную SARS-CoV-2 [52]. Авторы считают, что мазки из носо- и ротоглотки актуальны в случае массового освидетельствования граждан на наличие SARS-CoV-2, в ходе эпидемиологического расследования, при обследовании контактных лиц, то есть в случае невозможности отделения мокроты (ее отсутствия) у пациентов с уже развившейся инфекцией [52].

Накопленные исследования описывают случаи течения пневмонии COVID-19 у пациентов как с нормальной температурой тела и отсутствием респираторных симптомов, так и с наличием типичных признаков инфекционного заболевания у лиц с отрицательным ПЦР-анализом мазков из ротоглотки, но с характерными изменениями, выявленными при КТ [53–56]. При этом впоследствии у некоторых из наблюдаемых пациентов РНК SARS-CoV-2 обнаруживалась в мокроте [50, 51, 53], в связи с чем возникает вопрос оценки чувствительности метода ПЦР и КТ для диагностики пневмонии, вызванной SARS-CoV-2.

Сравнительное исследование легких методом КТ и мазков из носо- и ротоглотки путем ПЦР, проведенное у больных с подозрением на пневмонию, показало большую чувствительность у первого из них по сравнению со вторым методом (97,2 [54] – 98,0 [55]% и 71,0 [55] – 83,3 [54]%, соответственно). Авторы пришли к выводу о том, что выявленные различия могут быть обусловлены недостаточной чувствительностью тест-систем, низкой вирусной нагрузкой в респираторном мазке пациента с подозрением на пневмонию, неправильным забором биологического материала, несоблюдением требований транспортировки образцов [54, 55]. В целом исследователи подтвердили, что лабораторное освидетельствование методом ПЦР, причём преимущественно бронхоальвеолярного лаважа [57], мокроты [54], и наименее информативных мазков из носо- и ротоглотки [57], совместно с проведением лучевой диагностики [57–59] являются крайне важными для диагностики пневмонии, обусловленной новой коронавирусной инфекцией.

Несмотря на безусловные достоинства КТ, следует учитывать высокую лучевую нагрузку на организм человека, которая возникает в случае частого проведения рентгенологических исследований, в связи с чем исследователи рекомендуют проведение низко дозированной КТ, поглощенная и эффективная дозы которой в 8,9 раз ниже по сравнению со стандартной процедурой. При этом качество снимков практически не страдает, что подтверждается измеренными коэффициентами помех (сигнал/шум – 0,47 и 0,78, соответственно) и контраст/шум (1,09 и 3,79, соответственно) [60].

Учитывая возникающие субъективные трудности в дифференциальной диагностике различных видов пневмоний [48, 49], в алгоритм лучевой диагностики также предлагается внедрить алгоритм искусственного интеллекта. Это позволит не только снизить вероятность ошибки, повысить качество и скорость оценки рентгенологической картины, а соответственно и постановки правильного диагноза, что является крайне необходимым в условиях массовости инфицирования, но и снизить нагрузку на медицинский персонал, позволяя как лечащим врачам, так и рентгенологам работать более продуктивно [61].

Заключение

Таким образом, пневмонии, вызванные SARS-CoV-2, характеризуются изменениями в клеточном звене иммунитета, в соотношении субпопуляций лимфоцитов. В организме инфицированного человека возникает «цитокиновый шторм», который в свою очередь приводит к активации процессов фиброза легких.

Возникновение ко-инфекции у таких пациентов является относительно редким явлением, однако в ОПИТ риск формирования ко-инфекции значительно увеличивается, не исключено инфицирование пациентов с новой коронавирусной инфекцией бактериальными,

грибковыми и вирусными возбудителями.

Диагностика пневмонии, обусловленной SARS-CoV-2, в некоторых случаях может представлять сложность в связи с тем, что ПЦР, проведенная для биологического материала, полученного только из носо/ротоглотки, может дать ложноотрицательный результат. Кроме того, существует определенный риск и в неверной интерпретации рентгенологической картины. В связи с этим, наряду с обязательным эпидемиологическим анамнезом, дополнительное исследование мокроты (или бронхоальвеолярного лаважа) на наличие РНК нового коронавируса и точная трактовка результатов лучевой диагностики являются

необходимыми условиями для подтверждения COVID-19.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Источники финансирования

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

1. Брико Н.И. 100 лет пандемии: уроки истории. Новый этап вакцинопрофилактики // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2018. Т.4, №17. С.68–75.
2. Jiang F., Deng L., Zhang L., Cai Y., Cheung C.W., Xia Z. Review of the Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) // J. Gen. Intern. Med. 2020. Vol.35, №5. P.1545–1549. <https://doi.org/10.1007/s11606-020-05762-w>
3. Zhu N., Zhang D., Wang W., Li X., Yang B., Song J., Zhao X., Huang B., Shi W., Lu R., Niu P., Zhan F., Ma X., Wang D., Xu W., Wu G., Gao G.F., Tan W.; China Novel Coronavirus Investigating and Research Team. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019 // N. Engl. J. Med. 2020. Vol.382, №8. P.727–733. doi: 10.1056/NEJMoa2001017
4. de Wit E., van Doremalen N., Falzarano D., Munster V.J. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses // Nat. Rev. Microbiol. 2016. Vol.14, №8. P.523–534. doi: 10.1038/nrmicro.2016.81
5. Wang Y., Wang Y., Chen Y., Qin Q. Unique epidemiological and clinical features of the emerging 2019 novel coronavirus pneumonia (COVID-19) implicate special control measures // J. Med. Virol. 2020. Vol.92, №6. P.568–576. doi: 10.1002/jmv.25748
6. Park J.E., Soyoun J., Aeran K., Park J.E. MERS transmission and risk factors: a systematic review // BMC Public Health. 2018. Vol.18, №1. Article number 574. doi: 10.1186/s12889-018-5484-8
7. Huang C., Wang Y., Li X., Ren L., Zhao J., Hu Y., Zhang L., Fan G., Xu J., Gu X., Cheng Z., Yu T., Xia J., Wei Y., Wu W., Xie X., Yin W., Li H., Liu M., Xiao Y., Gao H., Guo L., Xie J., Wang G., Jiang R., Gao Z., Jin Q., Wang J., Cao B. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China // Lancet. 2020. Vol.95, №10223. P.497–506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5
8. Wang D, Hu B, Hu C., Zhu F., Liu X., Zhang J., Wang B, Xiang H., Cheng Z., Xiong Y., Zhao Y., Li Y., Wang X., Peng Z. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China // JAMA. 2020. Vol.323, №11. P.1061–1069. doi: 10.1001/jama.2020.1585
9. Varatharaj A., Thomas N., Ellul M.A., Davies N.W.S., Pollak T.A., Tenorio E.L., Sultan M., Easton A., Breen G., Zandi M., Coles J.P., Manji H., Al-Shahi Salman R., Menon D.K., Nicholson T.R., Benjamin L.A., Carson A., Smith C., Turner M.R., Solomon T., Kneen R., Pett S.L., Galea I., Thomas R.H., Michael B.D.; CoroNerve Study Group. Neurological and neuropsychiatric complications of COVID-19 in 153 patients: a UK-wide surveillance study // Lancet Psychiatry. 2020. Vol.7, №10. P.875–882. doi: 10.1016/S2215-0366(20)30287-X
10. Jin Y.H., Cai L., Cheng Z.S., Cheng H., Deng T., Fan Y.P., Fang C., Huang D., Huang L.Q., Huang Q., Han Y., Hu B., Hu F., Li B.H., Li Y.R., Liang K., Lin L.K., Luo L.S., Ma J., Ma L.L., Peng Z.Y., Pan Y.B., Pan Z.Y., Ren X.Q., Sun H.M., Wang Y., Wang Y.Y., Weng H., Wei C.J., Wu D.F., Xia J., Xiong Y., Xu H.B., Yao X.M., Yuan Y.F., Ye T.S., Zhang X.C., Zhang Y.W., Zhang Y.G., Zhang H.M., Zhao Y., Zhao M.J., Zi H., Zeng X.T., Wang Y.Y., Wang X.H. A rapid advice guideline for the diagnosis and treatment of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infected pneumonia (standard version) // Mil. Med. Res. 2020. Vol.7, №1. Article number 4. doi: 10.1186/s40779-020-0233-6
11. Transmission of SARS-CoV-2: implications for infection prevention precautions. WHO Scientific Brief (9 July 2020). URL: <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/transmission-of-sars-cov-2-implications-for-infection-prevention-precautions> (дата обращения 18.07.2020).
12. Wu Y., Guo C., Tang L., Hong Z., Zhou J., Dong X., Yin H., Xiao Q., Tang Y., Qu X., Kuang L., Fang X., Mishra N., Lu J., Shan H., Jiang G., Huang X. Prolonged presence of SARS-CoV-2 viral RNA in faecal samples // Lancet Gastroenterol. Hepatol. 2020. Vol.5, №5. P.434–435. doi: 10.1016/S2468-1253(20)30083-2
13. Sun J., Zhu A., Li H., Zheng K., Zhuang Z., Chen Z., Shi Y., Zhang Z., Chen S.B., Liu X., Dai J., Li X., Huang S., Huang X., Luo L., Wen L., Zhuo J., Li Y., Wang Y., Zhang L., Zhang Y., Li F., Feng L., Chen X., Zhong N., Yang Z.,

Huang J., Zhao J., Li Y.M. Isolation of infectious SARS-CoV-2 from urine of a COVID-19 patient // *Emerg. Microbes Infect.* 2020. Vol.9, №1. P.991–993. doi: 10.1080/22221751.2020.1760144

14. Wang W., Xu Y., Gao R., Lu R., Han K., Wu G., Tan W. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens // *JAMA.* 2020. Vol.323, №18. P.1843–1844. doi: 10.1001/jama.2020.3786

15. García L.F. Immune Response, Inflammation, and the Clinical Spectrum of COVID-19 // *Front. Immunol.* 2020. Vol.11. Article number 1441. doi: 10.3389/fimmu.2020.01441

16. Wu J.H., Li X., Huang B., Su H., Li Y., Luo D.J., Chen S., Ma L., Wang S.H., Nie X., Peng L. Pathological changes of fatal coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the lungs: report of 10 cases by postmortem needle autopsy // *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi.* 2020. Vol.49, №6. P.568–575. doi: 10.3760/cma.j.cn112151-20200405-00291

17. Zhou P., Yang X.L., Wang X.G., Hu B., Zhang L., Zhang W., Si H.R., Zhu Y., Li B., Huang C.L., Chen H.D., Chen J., Luo Y., Guo H., Jiang R.D., Liu M.Q., Chen Y., Shen X.R., Wang X., Zheng X.S., Zhao K., Chen Q.J., Deng F., Liu L.L., Yan B., Zhan F.X., Wang Y.Y., Xiao G.F., Shi Z.L. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin // *Nature.* 2020. Vol.579, №7798. P. 270–273. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7

18. Harmer D., Gilbert M., Borman R., Clark K. L. Quantitative mRNA expression profiling of ACE 2, a novel homologue of angiotensin converting enzyme // *FEBS Lett.* 2002. Vol.532. №1-2. P.107–110. doi: 10.1016/s0014-5793(02)03640-2

19. Lin L., Lu L., Cao W., Li T. Hypothesis for potential pathogenesis of SARS-CoV-2 infection—a review of immune changes in patients with viral pneumonia // *Emerg. Microbes Infect.* 2020. Vol.9, №1. P.727–732. doi: 10.1080/22221751.2020.1746199

20. Hu Y., Deng H., Huang L., Xia L., Zhou X. Analysis of Characteristics in Death Patients with COVID-19 Pneumonia without Underlying Diseases // *Acad. Radiol.* 2020. Vol.27, №5. Article number 752. doi: 10.1016/j.acra.2020.03.023

21. Li L., Zhang B., He B., Gong Z., Chen X. Critical patients with coronavirus disease 2019: Risk factors and outcome nomogram // *J. Infect.* 2020. Vol.80, №6. e37–e38. doi: 10.1016/j.jinf.2020.03.025

22. Wang F., Nie J., Wang H., Zhao Q., Xiong Y., Deng L., Song S., Ma Z., Mo P., Zhang Y. Characteristics of Peripheral Lymphocyte Subset Alteration in COVID-19 Pneumonia // *J. Infect. Dis.* 2020. Vol.221. №11. P.1762–1769. doi: 10.1093/infdis/jiaa150

23. Liu Y., Yang Y., Zhang C., Huang F., Wang F., Yuan J., Wang Z., Li J., Li J., Feng C., Zhang Z., Wang L., Peng L., Chen L., Qin Y., Zhao D., Tan S., Yin L., Xu J., Zhou C., Jiang C., Liu L. Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury // *Sci. China Life Sci.* 2020. Vol.63, №3. P.364–374. doi: 10.1007/s11427-020-1643-8

24. Liu X., Zhou H., Zhou Y., Wu X., Zhao Y., Lu Y., Tan W., Yuan M., Ding X., Zou J., Li R., Liu H., Ewing R.M., Hu Y., Nie H., Wang Y. Risk factors associated with disease severity and length of hospital stay in COVID-19 patients // *J. Infect.* 2020. Vol.81, №1. e95–e97. doi: 10.1016/j.jinf.2020.04.008

25. Li L., Zhang B., He B., Gong Z., Chen X. Critical patients with coronavirus disease 2019: Risk factors and outcome nomogram // *J. Infect.* 2020. Vol. 80, №6. e37–e38. doi: 10.1016/j.jinf.2020.03.025

26. Porfidia A., Pola R. Venous thromboembolism in COVID-19 patients // *J. Thromb. Haemost.* 2020. Vol.18, №6. P.1516–1517. doi: 10.1111/jth.14842

27. Guevara-Noriega K.A., Lucar-Lopez G.A., Nuñez G., Rivera-Aguasvivas L., Chauhan I. Coagulation Panel in Patients with SARS-CoV2 Infection (COVID-19) // *Ann. Clin. Lab. Sci.* 2020. Vol.50, №3. P.295–298.

28. Du R.H., Liang L.R., Yang C.Q., Wang W., Cao T.Z., Li M., Guo G.Y., Du J., Zheng C.L., Zhu Q., Hu M., Li X.Y., Peng P., Shi H.Z. Predictors of mortality for patients with COVID-19 pneumonia caused by SARS-CoV-2: a prospective cohort study // *Eur. Respir. J.* 2020. Vol.55, №5. Article number 2000524. doi: 10.1183/13993003.00524-2020

29. Ackermann M., Verleden S.E., Kuehnel M., Haverich A., Welte T., Laenger F., Vanstapel A., Werlein C., Stark H., Tzankov A., Li W.W., Li V.W., Mentzer S.J., Jonigk D. Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19 // *N. Engl. J. Med.* 2020. Vol.383, №2. P.120–128. doi: 10.1056/NEJMoa2015432

30. Yang X., Yu Y., Xu J., Shu H., Xia J., Liu H., Wu Y., Zhang L., Yu Z., Fang M., Yu T., Wang Y., Pan S., Zou X., Yuan S., Shang Y. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study // *Lancet Respir. Med.* 2020. Vol.8, №5. P.475–481. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30079-5

31. Lansbury L., Lim B., Baskaran V., Lim W.S. Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis // *J. Infect.* 2020. Vol.81, №2. P.266–275. doi: 10.1016/j.jinf.2020.05.046

32. Póvoa H.C.C., Chianca G.C., Iorio N.L.P.P. COVID-19: An Alert to Ventilator-Associated Bacterial // *Infect. Dis. Ther.* 2020. Vol.9, №3. P.417–420. doi: 10.1007/s40121-020-00306-5

33. Орлова О.А., Акимкин В.Г. Организация эпидемиологической диагностики вентилятор-ассоциированных инфекций дыхательных путей // *Медицинский алфавит.* 2017. Т.3, № 30. С.15–19.

34. Teng F., Liu X., Guo S.B., Li Z., Ji W.Q., Zhang F., Zhu X.M. Community-acquired bacterial co-infection predicts severity and mortality in influenza-associated pneumonia admitted patients // *J. Infect. Chemother.* 2019. Vol.25, №2.

P.129–136. doi: 10.1016/j.jiac.2018.10.014

35. Nowak M.D., Sordillo E.M., Gitman M.R., Paniz Mondolfi A.E. Co-infection in SARS-CoV-2 infected Patients: Where Are Influenza Virus and Rhinovirus/Enterovirus? // *J. Med. Virol.* 2020. <https://doi.org/10.1002/jmv.25953>

36. Kreitmam L., Monard C., Dauwalder O., Simon M., Argaud L. Early bacterial co-infection in ARDS related to COVID-19 // *Intensive Care Med.* 2020. Vol.46, №9. P.1787–1789. doi: 10.1007/s00134-020-06165-5

37. Cucchiari D., Pericàs J.M., Riera J., Gumucio R., Coloma E., Nicolás D. Pneumococcal superinfection in COVID-19 patients: A series of 5 cases // *Med. Clin. (Barc.)* 2020. doi: 10.1016/j.medcli.2020.05.022

38. He G., Wu J., Shi J., Dai J., Gamber M., Jiang X., Sun W., Cai J. COVID-19 in tuberculosis patients: A report of three cases // *J. Med. Virol.* 2020. 10.1002/jmv.25943. doi: 10.1002/jmv.25943

39. Chaudhary W.A., Chong P.L., Mani B.I., Asli R., Momin R.N., Abdullah M.S., Chong V.H. Primary Respiratory Bacterial Coinfections in Patients with COVID-19 // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2020. Vol.103, №2. P.917–919. doi: 10.4269/ajtmh.20-0498

40. Zhou Y., Guo S., He Y., Zuo Q., Liu D., Xiao M., Fan J., Li X. COVID-19 Is Distinct From SARS-CoV-2-Negative Community-Acquired Pneumonia // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2020. Vol.10. Article number 322. doi: 10.3389/fcimb.2020.00322

41. Xia T., Li J., Gao J., Xu X. Small Solitary Ground-Glass Nodule on CT as an Initial Manifestation of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pneumonia // *Korean J. Radiol.* 2020. Vol.21, №5. P.545–549. doi:10.3348/kjr.2020.0240

42. Song F., Shi N., Shan F., Zhang Z., Shen J., Lu H., Ling Y., Jiang Y., Shi Y. Emerging 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV) Pneumonia // *Radiology.* 2020. Vol.295, №1. P.210–217. doi: 10.1148/radiol.2020200274

43. Shi H., Han X., Jiang N., Cao Y., Alwalid O., Gu J., Fan Y., Zheng C. Radiological findings from 81 patients with COVID-19 pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study // *Lancet Infect. Dis.* 2020. Vol.20, №4. P.425–434. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30086-4

44. Pan Y., Guan H., Zhou S., Wang Y., Li Q., Zhu T., Hu Q., Xia L. Initial CT findings and temporal changes in patients with the novel coronavirus pneumonia (2019-nCoV): a study of 63 patients in Wuhan, China // *Eur. Radiol.* 2020. Vol.30, №6. P.3306–3309. doi: 10.1007/s00330-020-06731-x

45. Bhat R., Hamid A., Kunin J.R., Saboo S.S., Batra K., Baruah D., Bhat A.P. Chest Imaging in Patients Hospitalized With COVID-19 Infection – A Case Series // *Curr. Probl. Diagn. Radiol.* 2020. Vol.49, №4. P.294–301. doi: 10.1067/j.cpradiol.2020.04.001

46. Sun R., Liu H., Wang X. Mediastinal Emphysema, Giant Bulla, and Pneumothorax Developed during the Course of COVID-19 Pneumonia // *Korean J. Radiol.* 2020. Vol.21, №5. P.541–544. doi: 10.3348/kjr.2020.0180

47. Wang J., Su X., Zhang T., Zheng C. Spontaneous Pneumomediastinum: A Probable Unusual Complication of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pneumonia // *Korean J. Radiol.* 2020. Vol.21, №5. P.627–628. doi: 10.3348/kjr.2020.0281

48. Tian X.L., Peng M., Wang H.P., Cai B.Q., Xu W.B., Zhu Y.J., Li T.S., Zhu H.D., Song L., Wang M.Z., Zhang L., Shi J.H. The differential diagnosis for novel coronavirus pneumonia and similar lung diseases in general hospitals // *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi.* 2020. Vol.43, №5. P.401–408 (in Chinese). doi: 10.3760/cma.j.cn112147-20200221-00136

49. Lin C., Ding Y., Xie B., Sun Z., Li X., Chen Z., Niu M. Asymptomatic novel coronavirus pneumonia patient outside Wuhan: The value of CT images in the course of the disease // *Clin. Imaging.* 2020. Vol.63. P.7–9. doi: 10.1016/j.clinimag.2020.02.008

50. Hase R., Kurita T., Muranaka E., Sasazawa H., Mito H., Yano Y. A case of imported COVID-19 diagnosed by PCR-positive lower respiratory specimen but with PCR-negative throat swabs // *Infect. Dis. (Lond.)* 2020. Vol.52, №6. P.423–426. doi: 10.1080/23744235.2020.1744711

51. Hornuss D., Laubner K., Monasterio C., Thimme R., Wagner D. COVID-19 associated pneumonia despite repeatedly negative PCR-analysis from oropharyngeal swabs // *Dtsch Med. Wochenschr.* 2020. Vol.145, №12. P.844–849 (in German). doi: 10.1055/a-1170-6061

52. Lin C., Xiang J., Yan M., Li H., Huang S., Shen C. Comparison of throat swabs and sputum specimens for viral nucleic acid detection in 52 cases of novel coronavirus (SARS-Cov-2)-infected pneumonia (COVID-19) // *Clin. Chem. Lab. Med.* 2020. Vol.58, №7. P.1089–1094. doi: 10.1515/cclm-2020-0187

53. Sivakorn C., Luvira V., Muangnoicharoen S., Piroonamornpun P., Ouppapong T., Mungaomklang A., Iamsirithaworn S. Case Report: Walking Pneumonia in Novel Coronavirus Disease (COVID-19): Mild Symptoms with Marked Abnormalities on Chest Imaging // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2020. Vol.102, №5. P.940–942. doi: 10.4269/ajtmh.20-0203

54. Long C., Xu H., Shen Q., Zhang X., Fan B., Wang C., Zeng B., Li Z., Li X., Li H. Diagnosis of the Coronavirus disease (COVID-19): rRT-PCR or CT? // *Eur. J. Radiol.* 2020. Vol.126. Article number 108961. doi: 10.1016/j.ejrad.2020.108961

55. Fang Y., Zhang H., Xie J., Lin M., Ying L., Pang P., Ji W. Sensitivity of Chest CT for COVID-19: Comparison to RT-PCR // *Radiology.* 2020. Vol.296, №2. E115–E117. doi: 10.1148/radiol.2020200432

56. Fechner C., Strobel K., Treumann T., Sonderegger B., Azzola A., Fornaro J., Schradling S., Roos J.E. COVID-19

and the role of imaging: early experiences in Central Switzerland // *Swiss Med. Wkly.* 2020. Vol.150. Article number w20304. doi: 10.4414/smw.2020.20304

57. Zheng Z., Yao Z., Wu K., Zheng J. The diagnosis of pandemic coronavirus pneumonia: A review of radiology examination and laboratory test // *J. Clin. Virol.* 2020. Vol.128. Article number 104396. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104396

58. Tenda E.D., Yulianti M., Asaf M.M., Yunus R.E., Septiyanti W., Wulani V., Pitoyo C.W., Rumende C.M., Setiati S. The Importance of Chest CT Scan in COVID-19 // *Acta Med. Indones.* 2020. Vol.52, №1. P.68–73.

59. Ai T., Yang Z., Hou H., Zhan C., Chen C., Lv W., Tao Q., Sun Z., Xia L. Correlation of Chest CT and RT-PCR Testing for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in China: A Report of 1014 Cases // *Radiology.* 2020. Vol.296, №2. E32–E40. doi: 10.1148/radiol.2020200642

60. Kang Z., Li X., Zhou S. Recommendation of low-dose CT in the detection and management of COVID-2019 // *Eur. Radiol.* 2020. Vol.30, №8. P.4356–4357. doi: 10.1007/s00330-020-06809-6

61. Kim H. Outbreak of novel coronavirus (COVID-19): What is the role of radiologists? // *Eur. Radiol.* 2020. Vol.30, №6. P.3266–3267. doi: 10.1007/s00330-020-06748-2

REFERENCES

1. Briko N.I. 100 Years after the Spanish Flu Pandemic. The Evolution of the Influenza Virus and the Development of the Flu Vaccine. *Epidemiology and Vaccinal Prevention* 2018; 17(4):68–75 (in Russian).

2. Jiang F., Deng L., Zhang L., Cai Y., Cheung C.W., Xia Z. Review of the Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *J. Gen. Intern. Med.* 2020; 35(5):1545–1549. <https://doi.org/10.1007/s11606-020-05762-w>

3. Zhu N., Zhang D., Wang W., Li X., Yang B., Song J., Zhao X., Huang B., Shi W., Lu R., Niu P., Zhan F., Ma X., Wang D., Xu W., Wu G., Gao G.F., Tan W.; China Novel Coronavirus Investigating and Research Team. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N. Engl. J. Med.* 2020; 382(8):727–733. doi: 10.1056/NEJMoa2001017

4. de Wit E., van Doremalen N., Falzarano D., Munster V.J. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nat. Rev. Microbiol.* 2016; 14(8):523–534. doi:10.1038/nrmicro.2016.81

5. Wang Y., Wang Y., Chen Y., Qin Q. Unique epidemiological and clinical features of the emerging 2019 novel coronavirus pneumonia (COVID-19) implicate special control measures. *J. Med. Virol.* 2020; 92(6):568–576. doi: 10.1002/jmv.25748

6. Park J.E., Soyoung J., Aeran K., Park J.E. MERS transmission and risk factors: a systematic review. *BMC Public Health* 2018; 18:574. doi: 10.1186/s12889-018-5484-8

7. Huang C., Wang Y., Li X., Ren L., Zhao J., Hu Y., Zhang L., Fan G., Xu J., Gu X., Cheng Z., Yu T., Xia J., Wei Y., Wu W., Xie X., Yin W., Li H., Liu M., Xiao Y., Gao H., Guo L., Xie J., Wang G., Jiang R., Gao Z., Jin Q., Wang J., Cao B. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020; 395(10223):497–506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5

8. Wang D, Hu B, Hu C., Zhu F., Liu X., Zhang J., Wang B, Xiang H., Cheng Z., Xiong Y., Zhao Y., Li Y., Wang X., Peng Z. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA* 2020; 323(11):1061–1069. doi: 10.1001/jama.2020.1585

9. Varatharaj A., Thomas N., Ellul M.A., Davies N.W.S., Pollak T.A., Tenorio E.L., Sultan M., Easton A., Breen G., Zandi M., Coles J.P., Manji H., Al-Shahi Salman R., Menon D.K., Nicholson T.R., Benjamin L.A., Carson A., Smith C., Turner M.R., Solomon T., Kneen R., Pett S.L., Galea I., Thomas R.H., Michael B.D.; CoroNerve Study Group. Neurological and neuropsychiatric complications of COVID-19 in 153 patients: a UK-wide surveillance study. *Lancet Psychiatry* 2020; 7(10):875–882. doi: 10.1016/S2215-0366(20)30287-X

10. Jin Y.H., Cai L., Cheng Z.S., Cheng H., Deng T., Fan Y.P., Fang C., Huang D., Huang L.Q., Huang Q., Han Y., Hu B., Hu F., Li B.H., Li Y.R., Liang K., Lin L.K., Luo L.S., Ma J., Ma L.L., Peng Z.Y., Pan Y.B., Pan Z.Y., Ren X.Q., Sun H.M., Wang Y., Wang Y.Y., Weng H., Wei C.J., Wu D.F., Xia J., Xiong Y., Xu H.B., Yao X.M., Yuan Y.F., Ye T.S., Zhang X.C., Zhang Y.W., Zhang Y.G., Zhang H.M., Zhao Y., Zhao M.J., Zi H., Zeng X.T., Wang Y.Y., Wang X.H. A rapid advice guideline for the diagnosis and treatment of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infected pneumonia (standard version). *Mil. Med. Res.* 2020; 7(1):4. doi: 10.1186/s40779-020-0233-6

11. Transmission of SARS-CoV-2: implications for infection prevention precautions. WHO Scientific Brief (9 July 2020). Available at: <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/transmission-of-sars-cov-2-implications-for-infection-prevention-precautions>

12. Wu Y., Guo C., Tang L., Hong Z., Zhou J., Dong X., Yin H., Xiao Q., Tang Y., Qu X., Kuang L., Fang X., Mishra N., Lu J., Shan H., Jiang G., Huang X. Prolonged presence of SARS-CoV-2 viral RNA in faecal samples. *Lancet Gastroenterol. Hepatol.* 2020; 5(5):434–435. doi: 10.1016/S2468-1253(20)30083-2

13. Sun J., Zhu A., Li H., Zheng K., Zhuang Z., Chen Z., Shi Y., Zhang Z., Chen S.B., Liu X., Dai J., Li X., Huang S., Huang X., Luo L., Wen L., Zhuo J., Li Y., Wang Y., Zhang L., Zhang Y., Li F., Feng L., Chen X., Zhong N., Yang Z., Huang J., Zhao J., Li Y.M. Isolation of infectious SARS-CoV-2 from urine of a COVID-19 patient. *Emerg. Microbes*

Infect. 2020; 9(1):991–993. doi: 10.1080/22221751.2020.1760144

14. Wang W., Xu Y., Gao R., Lu R., Han K., Wu G., Tan W. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA* 2020; 323(18):1843–1844. doi: 10.1001/jama.2020.3786

15. García L.F. Immune Response, Inflammation, and the Clinical Spectrum of COVID-19. *Front. Immunol.* 2020; 11:1441. doi: 10.3389/fimmu.2020.01441

16. Wu J.H., Li X., Huang B., Su H., Li Y., Luo D.J., Chen S., Ma L., Wang S.H., Nie X., Peng L. Pathological changes of fatal coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the lungs: report of 10 cases by postmortem needle autopsy. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi* 2020; 49(6):568–575 (in Chinese). doi: 10.3760/cma.j.cn112151-20200405-00291

17. Zhou P., Yang X.L., Wang X.G., Hu B., Zhang L., Zhang W., Si H.R., Zhu Y., Li B., Huang C.L., Chen H.D., Chen J., Luo Y., Guo H., Jiang R.D., Liu M.Q., Chen Y., Shen X.R., Wang X., Zheng X.S., Zhao K., Chen Q.J., Deng F., Liu L.L., Yan B., Zhan F.X., Wang Y.Y., Xiao G.F., Shi Z.L. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 2020; 579(7798):270–273. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7

18. Harmer D., Gilbert M., Borman R., Clark K. L. Quantitative mRNA expression profiling of ACE 2, a novel homologue of angiotensin converting enzyme. *FEBS Lett.* 2002; 532(1-2):107–110. doi: 10.1016/s0014-5793(02)03640-2

19. Lin L., Lu L., Cao W., Li T. Hypothesis for potential pathogenesis of SARS-CoV-2 infection—a review of immune changes in patients with viral pneumonia. *Emerg. Microbes Infect.* 2020; 9(1):727–732. doi: 10.1080/22221751.2020.1746199

20. Hu Y., Deng H., Huang L., Xia L., Zhou X. Analysis of Characteristics in Death Patients with COVID-19 Pneumonia without Underlying Diseases. *Acad. Radiol.* 2020; 27(5):752. doi: 10.1016/j.acra.2020.03.023

21. Li L., Zhang B., He B., Gong Z., Chen X. Critical patients with coronavirus disease 2019: Risk factors and outcome nomogram. *J. Infect.* 2020; 80(6):e37–e38. doi: 10.1016/j.jinf.2020.03.025

22. Wang F., Nie J., Wang H., Zhao Q., Xiong Y., Deng L., Song S., Ma Z., Mo P., Zhang Y. Characteristics of Peripheral Lymphocyte Subset Alteration in COVID-19 Pneumonia. *J. Infect. Dis.* 2020; 221(11):1762–1769. doi: 10.1093/infdis/jiaa150

23. Liu Y., Yang Y., Zhang C., Huang F., Wang F., Yuan J., Wang Z., Li J., Li J., Feng C., Zhang Z., Wang L., Peng L., Chen L., Qin Y., Zhao D., Tan S., Yin L., Xu J., Zhou C., Jiang C., Liu L. Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury. *Sci. China Life Sci.* 2020; 63(3):364–374. doi: 10.1007/s11427-020-1643-8

24. Liu X., Zhou H., Zhou Y., Wu X., Zhao Y., Lu Y., Tan W., Yuan M., Ding X., Zou J., Li R., Liu H., Ewing R.M., Hu Y., Nie H., Wang Y. Risk factors associated with disease severity and length of hospital stay in COVID-19 patients. *J. Infect.* 2020; 81(1):e95–e97. doi: 10.1016/j.jinf.2020.04.008

25. Li L., Zhang B., He B., Gong Z., Chen X. Critical patients with coronavirus disease 2019: Risk factors and outcome nomogram. *J. Infect.* 2020; 80(6):e37–e38. doi: 10.1016/j.jinf.2020.03.025

26. Porfidia A., Pola R. Venous thromboembolism in COVID-19 patients. *J. Thromb. Haemost.* 2020; 18(6):1516–1517. doi: 10.1111/jth.14842

27. Guevara-Noriega K.A., Lucar-Lopez G.A., Nuñez G., Rivera-Aguasvivas L., Chauhan I. Coagulation Panel in Patients with SARS-CoV2 Infection (COVID-19). *Ann. Clin. Lab. Sci.* 2020; 50(3):295–298.

28. Du R.H., Liang L.R., Yang C.Q., Wang W., Cao T.Z., Li M., Guo G.Y., Du J., Zheng C.L., Zhu Q., Hu M., Li X.Y., Peng P., Shi H.Z. Predictors of mortality for patients with COVID-19 pneumonia caused by SARS-CoV-2: a prospective cohort study. *Eur. Respir. J.* 2020; 55(5):2000524. doi: 10.1183/13993003.00524-2020

29. Ackermann M., Verleden S.E., Kuehnel M., Haverich A., Welte T., Laenger F., Vanstapel A., Werlein C., Stark H., Tzankov A., Li W.W., Li V.W., Mentzer S.J., Jonigk D. Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19. *N. Engl. J. Med.* 2020; 383(2):120–128. doi: 10.1056/NEJMoa2015432

30. Yang X., Yu Y., Xu J., Shu H., Xia J., Liu H., Wu Y., Zhang L., Yu Z., Fang M., Yu T., Wang Y., Pan S., Zou X., Yuan S., Shang Y. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir. Med.* 2020; 8(5):475–481. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30079-5

31. Lansbury L., Lim B., Baskaran V., Lim W.S. Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *J. Infect.* 2020; 81(2):266–275. doi: 10.1016/j.jinf.2020.05.046

32. Póvoa H.C., Chianca G.C., Iorio N.L.P.P. COVID-19: An Alert to Ventilator-Associated Bacterial. *Infect. Dis. Ther.* 2020; 9(3):417–420. doi: 10.1007/s40121-020-00306-5

33. Orlova O.A., Akimkin V.G. Organization of epidemiological diagnosis of ventilator-associated respiratory infections. *Medical alphabet* 2017; 3(30):15–19 (in Russian).

34. Teng F., Liu X., Guo S.B., Li Z., Ji W.Q., Zhang F., Zhu X.M. Community-acquired bacterial co-infection predicts severity and mortality in influenza-associated pneumonia admitted patients. *J. Infect. Chemother.* 2019; 25(2):129–136. doi: 10.1016/j.jiac.2018.10.014

35. Nowak M.D., Sordillo E.M., Gitman M.R., Paniz Mondolfi A.E. Co-infection in SARS-CoV-2 infected Patients:

Where Are Influenza Virus and Rhinovirus/Enterovirus? *J. Med. Virol.* 2020. <https://doi.org/10.1002/jmv.25953>

36. Kreitmann L., Monard C., Dauwalder O., Simon M., Argaud L. Early bacterial co-infection in ARDS related to COVID-19. *Intensive Care Med.* 2020; 46(9):1787–1789. doi: 10.1007/s00134-020-06165-5

37. Cucchiari D., Pericàs J.M., Riera J., Gumucio R., Coloma E., Nicolás D. Pneumococcal superinfection in COVID-19 patients: A series of 5 cases. *Med. Clin. (Barc).* 2020. doi: 10.1016/j.medcli.2020.05.022

38. He G., Wu J., Shi J., Dai J., Gamber M., Jiang X., Sun W., Cai J. COVID-19 in tuberculosis patients: A report of three cases. *J. Med. Virol.* 2020. 10.1002/jmv.25943. doi: 10.1002/jmv.25943

39. Chaudhary W.A., Chong P.L., Mani B.I., Asli R., Momin R.N., Abdullah M.S., Chong V.H. Primary Respiratory Bacterial Coinfections in Patients with COVID-19. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2020; 103(2):917–919. doi: 10.4269/ajtmh.20-0498

40. Zhou Y., Guo S., He Y., Zuo Q., Liu D., Xiao M., Fan J., Li X. COVID-19 Is Distinct From SARS-CoV-2-Negative Community-Acquired Pneumonia. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2020; 10:322. doi: 10.3389/fcimb.2020.00322

41. Xia T., Li J., Gao J., Xu X. Small Solitary Ground-Glass Nodule on CT as an Initial Manifestation of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pneumonia. *Korean J. Radiol.* 2020; 21(5):545–549. doi: 10.3348/kjr.2020.0240

42. Song F., Shi N., Shan F., Zhang Z., Shen J., Lu H., Ling Y., Jiang Y., Shi Y. Emerging 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV) Pneumonia. *Radiology* 2020; 295(1):210–217. doi: 10.1148/radiol.2020200274

43. Shi H., Han X., Jiang N., Cao Y., Alwalid O., Gu J., Fan Y., Zheng C. Radiological findings from 81 patients with COVID-19 pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet Infect. Dis.* 2020; 20(4):425–434. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30086-4

44. Pan Y., Guan H., Zhou S., Wang Y., Li Q., Zhu T., Hu Q., Xia L. Initial CT findings and temporal changes in patients with the novel coronavirus pneumonia (2019-nCoV): a study of 63 patients in Wuhan, China. *Eur. Radiol.* 2020; 30(6):3306–3309. doi: 10.1007/s00330-020-06731-x

45. Bhat R., Hamid A., Kunin J.R., Saboo S.S., Batra K., Baruah D., Bhat A.P. Chest Imaging in Patients Hospitalized With COVID-19 Infection – A Case Series. *Curr. Probl. Diagn. Radiol.* 2020; 49(4):294–301. doi: 10.1067/j.cpradiol.2020.04.001

46. Sun R., Liu H., Wang X. Mediastinal Emphysema, Giant Bulla, and Pneumothorax Developed during the Course of COVID-19 Pneumonia. *Korean J. Radiol.* 2020; 21(5):541–544. doi: 10.3348/kjr.2020.0180

47. Wang J., Su X., Zhang T., Zheng C. Spontaneous Pneumomediastinum: A Probable Unusual Complication of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pneumonia. *Korean J. Radiol.* 2020; 21(5):627–628. doi: 10.3348/kjr.2020.0281

48. Tian X.L., Peng M., Wang H.P., Cai B.Q., Xu W.B., Zhu Y.J., Li T.S., Zhu H.D., Song L., Wang M.Z., Zhang L., Shi J.H. The differential diagnosis for novel coronavirus pneumonia and similar lung diseases in general hospitals. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi* 2020; 43(5):401–408 (in Chinese). doi: 10.3760/cma.j.cn112147-20200221-00136

49. Lin C., Ding Y., Xie B., Sun Z., Li X., Chen Z., Niu M. Asymptomatic novel coronavirus pneumonia patient outside Wuhan: The value of CT images in the course of the disease. *Clin. Imaging* 2020; 63:7–9. doi: 10.1016/j.clinimag.2020.02.008

50. Hase R., Kurita T., Muranaka E., Sasazawa H., Mito H., Yano Y. A case of imported COVID-19 diagnosed by PCR-positive lower respiratory specimen but with PCR-negative throat swabs. *Infect. Dis. (Lond)* 2020; 52(6):423–426. doi: 10.1080/23744235.2020.1744711

51. Hornuss D., Laubner K., Monasterio C., Thimme R., Wagner D. COVID-19 associated pneumonia despite repeatedly negative PCR-analysis from oropharyngeal swabs. *Dtsch Med. Wochenschr.* 2020; 145(12):844–849 (in German). doi: 10.1055/a-1170-6061

52. Lin C., Xiang J., Yan M., Li H., Huang S., Shen C. Comparison of throat swabs and sputum specimens for viral nucleic acid detection in 52 cases of novel coronavirus (SARS-Cov-2)-infected pneumonia (COVID-19). *Clin. Chem. Lab. Med.* 2020; 58(7):1089–1094. doi: 10.1515/cclm-2020-0187

53. Sivakorn C., Luvira V., Muangnoicharoen S., Piroonamornpun P., Oupparong T., Mungaomklang A., Iamsirithaworn S. Case Report: Walking Pneumonia in Novel Coronavirus Disease (COVID-19): Mild Symptoms with Marked Abnormalities on Chest Imaging. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2020; 102(5):940–942. doi: 10.4269/ajtmh.20-0203

54. Long C., Xu H., Shen Q., Zhang X., Fan B., Wang C., Zeng B., Li Z., Li X., Li H. Diagnosis of the Coronavirus disease (COVID-19): rRT-PCR or CT? *Eur. J. Radiol.* 2020; 126:108961. doi: 10.1016/j.ejrad.2020.108961

55. Fang Y., Zhang H., Xie J., Lin M., Ying L., Pang P., Ji W. Sensitivity of Chest CT for COVID-19: Comparison to RT-PCR. *Radiology* 2020; 296(2):E115–E117. doi: 10.1148/radiol.2020200432

56. Fechner C., Strobel K., Treumann T., Sonderegger B., Azzola A., Fornaro J., Schradling S., Roos J.E. COVID-19 and the role of imaging: early experiences in Central Switzerland. *Swiss Med. Wkly* 2020; 150:w20304. doi: 10.4414/sm.w.2020.20304

57. Zheng Z., Yao Z., Wu K., Zheng J. The diagnosis of pandemic coronavirus pneumonia: A review of radiology examination and laboratory test. *J. Clin. Virol.* 2020; 128:104396 doi: 10.1016/j.jcv.2020.104396

58. Tenda E.D., Yulianti M., Asaf M.M., Yunus R.E., Septiyanti W., Wulani V., Pitoyo C.W., Rumende C.M., Setiati

S. The Importance of Chest CT Scan in COVID-19. *Acta Med. Indones.* 2020; 52(1):68–73.

59. Ai T., Yang Z., Hou H., Zhan C., Chen C., Lv W., Tao Q., Sun Z., Xia L. Correlation of Chest CT and RT-PCR Testing for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in China: A Report of 1014 Cases. *Radiology* 2020; 296(2):E32–E40. doi: 10.1148/radiol.2020200642

60. Kang Z., Li X., Zhou S. Recommendation of low-dose CT in the detection and management of COVID-2019. *Eur. Radiol.* 2020; 30(8):4356–4357. doi: 10.1007/s00330-020-06809-6

61. Kim H. Outbreak of novel coronavirus (COVID-19): What is the role of radiologists? *Eur. Radiol.* 2020; 30(6):3266–3267. doi: 10.1007/s00330-020-06748-2

Информация об авторах:

Елена Анатольевна Базыкина, младший научный сотрудник, лаборатория эпидемиологии и профилактики вирусных гепатитов и СПИД, Федеральное бюджетное учреждение науки «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; e-mail: alyonaf@yandex.ru

Ольга Евгеньевна Троценко, д-р мед. наук, директор Федерального бюджетного учреждения науки «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; e-mail: trotsenko_oe@hniiem.ru

Author information:

Elena A. Bazykina, Junior Staff Scientist, Laboratory of Epidemiology and Prevention of Viral Hepatitis and AIDS, Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing; e-mail: alyonaf@yandex.ru

Olga E. Trotsenko, MD, PhD, D.Sc. (Med.), Director of Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing; e-mail: trotsenko_oe@hniiem.ru

Поступила 22.09.2020
Принята к печати 05.11.2020

Received September 22, 2020
Accepted November 05, 2020

УДК 796.077.2:616-036.886[(616.127+616.12-008.331.1)616-073.432.19]:575.22

DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-147-160

НЕКОТОРЫЕ АКТУАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ПРОБЛЕМЫ «СПОРТИВНОГО СЕРДЦА» (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ). ЧАСТЬ I

Ю.В.Вахненко, И.Е.Доровских, Е.Н.Гордиенко, М.А.Черных

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95*

РЕЗЮМЕ. Наибольшие перегрузки, морфологические и функциональные изменения при занятиях спортом высших достижений испытывает сердечно-сосудистая система, которая у ряда атлетов подвергается неадаптивному (патологическому) ремоделированию как функциональному, так и морфологическому. Последнее характеризуется определенными объективными признаками, в том числе показателями эхокардиографии, занимающей особое место в спортивной кардиологии. Структурные и функциональные изменения, выходящие за рамки общепринятой нормы (выраженная гипертрофия или дилатация отделов сердца, высокая артериальная гипертензия), могут ассоциироваться с систолической или диастолической дисфункцией миокарда и нарушением его электрических свойств, отдельные из которых являются предикторами тяжелых осложнений вплоть до внезапной сердечной смерти и представляют серьезную проблему в отношении допуска атлетов к тренировкам и соревнованиям. Обобщению взглядов авторитетных специалистов в области спортивной медицины на критерии патологического ремоделирования сердечной мышцы, роли эхокардиографии в его диагностике, обсуждению пределов нормы реакции на нагрузку артериального давления, анализу основных причин внезапной сердечной смерти атлетов, реалиям и перспективам генетического отбора в спорте посвящен данный обзор литературы.

Ключевые слова: спортивное сердце, патологическое ремоделирование миокарда, эхокардиография спортсмена, артериальная гипертензия спортсменов, внезапная смерть в спорте, спортивная генетика.

SOME TOPICAL ASPECTS OF THE PROBLEM OF "SPORTS HEART" (REVIEW). PART I

Yu. V. Vakhnenko, I. E. Dorovskikh, E. N. Gordienko, M. A. Chernykh

Amur State Medical Academy, 95 Gor'kogo Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

SUMMARY. The cardiovascular system experiences the greatest overload, morphological and functional changes in elite sport, which in a number of athletes undergoes non-adaptive (pathological) remodeling both functional and morphological. The latter is characterized by certain objective features, including echocardiography indicators, which occupies a special place in sports cardiology. Structural and functional changes beyond the generally accepted norm (pronounced cardiac hypertrophy or dilatation, high arterial hypertension) can be associated with systolic or diastolic myocardial dysfunction and impaired electrical properties, some of which are predictors of severe complications up to sudden cardiac death and pose a serious problem regarding the admission of athletes to training and competition. This review is devoted to summarizing the views of authoritative specialists in the field of sports medicine on the criteria of pathological remodeling of the heart muscle, the role of echocardiography in its diagnosis, the discussion of the limits of the norm of response to blood pressure load, the analysis of the main causes of sudden cardiac death of athletes, the realities and prospects of genetic selection in sports.

Key words: sports heart, pathological myocardial remodeling, athlete's echocardiography, athletes' arterial hypertension, sudden death in sports, sports genetics.

Контактная информация

Юлия Викторовна Вахненко, канд. мед. наук, ассистент кафедры госпитальной терапии с курсом фармакологии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Горького, 95. E-mail: gen-45@rambler.ru

Correspondence should be addressed to

Yulia V. Vakhnenko, MD, PhD (Med.), Assistant of Department of Hospital Therapy with Pharmacology Course, Amur State Medical Academy, 95 Gor'kogo Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation. E-mail: gen-45@rambler.ru

Для цитирования:

Вахненко Ю.В., Доровских И.Е., Гордиенко Е.Н., Черных М.А. Некоторые актуальные аспекты проблемы «спортивного сердца» (обзор литературы). Часть I // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2020. Вып. 78. С. 147–160. DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-147-160

For citation:

Vakhnenko Yu. V., Dorovskikh I. E., Gordienko E. N., Chernykh M. A. Some topical aspects of the problem of "sports heart" (review). Part I. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2020; (78):147–160 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2020-78-147-160

В 1899 году S.W.Henschen опубликовал исследование, в котором на основании перкуссии сердца сделал вывод об увеличении его размеров при регулярных физических нагрузках и предложил обозначать эти изменения термином «спортивное сердце». В 1938 году Г.Ф.Ланг описал возможный дуализм тренированного сердца, которое может быть более работоспособным и удовлетворять высоким требованиям, предъявляемым к нему при интенсивной физической работе, а может подвергнуться патологическим изменениям и снизить свою работоспособность на фоне хронического перенапряжения [1]. Со времени публикации работ Г.Ф.Ланга прошел почти целый век, но до настоящего времени продолжает дискутироваться вопрос об анатомических и функциональных признаках «спортивного сердца», о пределах его физиологической адаптации и механизмах перехода в патологическую стадию [2].

В настоящее время «спортивное сердце» ассоциируют с синдромом, включающим гипертрофию миокарда левого желудочка (ЛЖ), тенденцию к синусовой брадикардии и артериальной гипотонии в покое, формирующиеся в процессе длительных, регулярных и интенсивных физических нагрузок [3]. Предполагалось, что эти изменения являются исключительно физиологическими способами адаптации сердечно-сосудистой системы к занятиям спортом, однако, на сегодняшний день доказано, что каждый из перечисленных симптомов может быть признаком или предиктором патологических изменений. В частности, гипертрофия у спортсменов при определенных условиях является маркером повышенной летальности [4]. Неслучайно для определения патологического «спортивного сердца» с 1996 года также используют понятие «стрессорная кардиомиопатия» – состояние, развивающееся при воздействии на организм внешних (стрессовых и физических) факторов.

Неправильная организация тренировочного процесса, нерациональное использование средств и методов подготовки, недостаточный индивидуальный подход к дозированию физических нагрузок являются пусковыми факторами ухудшения кровообращения миокарда и развития хронического окислительного стресса, имеющего важное значение в патогенезе перенапряжения сердечно-сосудистой системы спортсменов высокой квалификации и патологического ремоделирования сердца [5].

Структурные и функциональные критерии адаптивного ремоделирования сердца спортсмена

У многих атлетов по сравнению с нетренированными людьми толщина задней стенки ЛЖ и межжелудочковой перегородки увеличена на 15-20%, а конечный диастолический размер (КДР) ЛЖ – на 10%. S.Basavarajiah et al. [6] описывают увеличение последнего показателя до 60 мм (максимально до 70 мм) без признаков дилатационной кардиомиопатии и утолще-

ние межжелудочковой перегородки более 12 мм (максимально 16 мм) у 1,5% из 3500 обследованных ими атлетов. Е.А.Гаврилова [7] на основании результатов эхокардиографии (ЭхоКГ) показала, что гипертрофия ЛЖ свыше 12 мм выявляется у 2% спортсменов, тренирующихся на выносливость, а увеличение КДР до 60 мм и более обнаруживается у 15% из них, среди этих лиц нередко регистрируются патологические изменения ЭКГ. Большинство авторов считают, что физиологической можно считать симметричную гипертрофию с толщиной задней стенки ЛЖ не более 12 мм и КДР ЛЖ не более 60 мм; по другим данным для мужчин эти цифры составляют, соответственно, не более 13 и 65 мм, а для женщин – не более 11 и 60 мм, соответственно; для подростков 15-17 лет мужского пола – 12 и 60 мм, соответственно; для подростков женского пола – 11 и 55 мм, соответственно. Данное явление считается адаптивным при нормальной переносимости тренировок и соревнований, в процессе которых не возникают ни субъективные, ни объективные признаки сердечной патологии [8, 9]. Гипертрофию миокарда до 13-16 мм и дилатацию полости ЛЖ до 55-60 мм относят к так называемой «серой зоне» (пограничной между физиологическим «спортивным сердцем» и гипертрофической или дилатационной кардиомиопатией) [10]. В связи с этим Т.Г.Вайханская [11] выделяет наиболее частые клинические проблемы, возникающие при обследовании высококвалифицированных спортсменов, а именно, дифференциальную диагностику гипертрофической кардиомиопатии и «спортивного сердца» у спортсменов с толщиной стенки миокарда ЛЖ от 13 до 15 мм в отсутствие расширения полости ЛЖ и при его нормальной сократимости и дифференциальную диагностику между субклинической стадией дилатационной кардиомиопатии и «спортивным сердцем» при увеличении полости ЛЖ ≥ 60 мм и нормальной или незначительно сниженной фракцией выброса ЛЖ (50-55%). Помимо этого, при сочетании расширения полости правого желудочка и снижении его фракции выброса с правожелудочковой экстрасистолией и инверсией зубца Т в правых грудных отведениях, автор указывает на необходимость исключать аритмогенную дисплазию правого желудочка, а при повышенной патологической трабекулярности ЛЖ при нормальной или незначительно сниженной фракции выброса (50-55%) проводить дифференциальную диагностику с кардиомиопатией «некомпактный миокард» [11]. Считают, что гипертрофированное физиологическое «спортивное сердце» в отличие от гипертрофической кардиомиопатии и патологического «спортивного сердца» характеризуется отсутствием у спортсменов отягощенной наследственности, асимметрии толщины стенок миокарда ЛЖ, нарушений его систолической и диастолической функций и дезорганизации кардиомиоцитов при микроскопии, а также уменьшением размеров ЛЖ после прекращения регулярных интенсивных

тренировок [12, 13]. Что касается фракции выброса ЛЖ, то у большинства атлетов в покое она может находиться на нижней границе нормы вследствие повышенного тонуса парасимпатической нервной системы, но во время физических нагрузок повышается до нормальных показателей [14, 15].

Широкое внедрение в практику спортивной медицины ультразвуковых методов диагностики позволило получить сведения о разных путях ремоделирования камер сердца (концентрическом и эксцентрическом) соответственно при статических и динамических нагрузках, что связывают с неодинаковыми механизмами адаптации к ним сердечно-сосудистой системы. При динамических тренировках наблюдается перегрузка ЛЖ преимущественно объемом, в то время, как при интенсивном статическом напряжении имеет место перегрузка ЛЖ давлением [16]. В то же время, «непатологической» можно считать равномерную эксцентрическую гипертрофию миокарда при допустимой дилатации камер сердца, масса которого не превышает 7,5 г/кг и составляет в среднем 500 г. Что касается левого предсердия, то на фоне регулярных тренировок его размер увеличивается у 20% спортсменов и имеет максимальное значение до 50 мм у мужчин и до 45 мм у женщин, что коррелирует с дилатацией ЛЖ. Это явление характерно для видов спорта, требующих выносливости и силы (например, для гребли) [17].

Продолжительное (2003-2015 годы) исследование А.Х.Талибова [18] с участием 462 спортсменов высокой квалификации показало, что для адаптивного ремоделирования ЛЖ характерно сохранение его эллипсоидной формы, нормального индекса сферичности ($<0,6$), индекса массы миокарда ЛЖ (не более 118 г/м²) и индекса относительной толщины стенки ЛЖ (менее 0,45). При неадаптивном ремоделировании ЛЖ утрачивает эллипсоидную форму, которая меняется на шаровидную, а вышеуказанные индексы превышают указанные значения. Для спортсменов, выполняющих большие нагрузки и эффективно выступающих на соревнованиях, характерны повышение ударного объема и высокая скорость циркулярного укорочения волокон миокарда ЛЖ при максимальных нагрузках, что подтверждает их достаточный тонус, позволяющий атлету выполнять нагрузки, максимальные по объему и интенсивности. Для спортсменов, выполняющих большие нагрузки, но выступающих нерезультативно, характерны снижение ударного объема и средней скорости циркулярного укорочения волокон миокарда ЛЖ, что свидетельствует об их недостаточной готовности к нагрузкам высокого уровня или о перетренированности (перенапряжении) спортсмена. Автор предлагает использовать эти показатели для оценки адаптации сердечно-сосудистой системы к нагрузкам высокой интенсивности и индивидуализации тренировочного процесса с целью повышения результата и профилактики предпатологических и патологических изменений сердца [18].

С.Х.Юмалин и соавт. [19] на основании обследования 60 юных хоккеистов выяснили, что показатели ЭхоКГ у них достоверно отличаются от нетренированных сверстников. У 23,3% атлетов выявлена умеренная гипертрофия миокарда ЛЖ, характерная для физиологического «спортивного сердца», у одного спортсмена – патологический вариант ремоделирования в виде эксцентрической гипертрофии ЛЖ и замедления его релаксации, свидетельствующих о начальной стадии диастолической дисфункции. КДР ЛЖ у данного атлета составил 56 мм. Эти же исследователи сравнили максимальную скорость раннего диастолического наполнения (пик Е), максимальную скорость наполнения в систолу предсердий (пик А) и соотношение пиков (Е/А) в группах лиц со структурными изменениями ЛЖ и без них. Оказалось, что у атлетов с показателями ЭхоКГ, находившимися на верхней границе нормы, значение пика А достоверно больше, чем в группах неспортсменов и спортсменов со структурными параметрами ЭхоКГ, превышающими норму. Для неспортсменов характерно большее значение пика Е и соотношения пиков Е/А относительно первой и второй групп, что указывает на возможность формирования патологических изменений сердца атлетов уже в юном возрасте [19].

Ряд исследователей на основании изучения диастолической функции ЛЖ спортсменов пришли к заключению, что индекс Е/А в различных группах (с пограничной массой миокарда, незначительной гипертрофией и достоверной гипертрофией ЛЖ) достаточно высок, но не превышает норму. Незначительная гипертрофия ЛЖ у абсолютного большинства спортсменов высокой квалификации (от первого разряда до мастера спорта), не имеющих жалоб на самочувствие, не сопровождается его диастолической дисфункцией. Однако, с нарастанием массы миокарда прослеживается тенденция к снижению скорости систолического движения миокарда Sa и диастолического пика Е в области боковой стенки митрального фиброзного кольца межжелудочковой перегородки и, в меньшей степени, в области задней стенки ЛЖ. Показано, что диастолическая дисфункция миокарда в описанных наблюдениях чаще всего связана с состоянием его хронического перенапряжения. Систолическая функция ЛЖ (фракция выброса по Симпсону) у лиц с повышенной массой миокарда достоверно ниже, чем у атлетов с нормальной массой сердечной мышцы [20, 21].

Поступившие в распоряжение специалистов обновленные Рекомендации по диастологии позволяют надеяться, что с помощью изучения предложенных показателей удастся более полно и качественно оценивать диастолическую функцию миокарда атлетов, что позволит профилактировать патологию сердца и улучшать спортивные достижения. Наряду с исследованием трансмитрального доплеровского потока и, соответственно, пиков Е и А, DT, IVRT, соотношения Е/А, рекомендуется доплеровская визуализация тка-

ней (tissue Doppler imaging – TDI), отражающая суммарную скорость движения миокарда в каждый момент времени. Доказано, что использование импульсно-волновой TDI позволяет отличить нормальный спектр его диастолического наполнения от псевдонормального и дифференцировать патологические нарушения диастолической функции от физиологических возрастных. Дополнить полученные сведения возможно с помощью индекса максимального объема левого предсердия, систолической скорости струи трехстворчатой регургитации, а также результатов пробы Вальсальвы для динамической оценки обратимости скоростей E/A трансмитрального потока [22].

В качестве предикторов неадаптивного (патологического) ремоделирования ЛЖ у атлетов называют: 1) возраст (с каждым годом вероятность развития неадаптивного ремоделирования ЛЖ на фоне постоянных тренировок увеличивается в 1,1 раза); 2) наличие сопутствующей соматической патологии (увеличивает вероятность неадаптивного ремоделирования ЛЖ в 3,8 раза); 3) занятие видами спорта, развивающими выносливость (увеличивает вероятность неадаптивного ремоделирования ЛЖ в 5,5 раза). В то же время занятия игровыми видами спорта уменьшают вероятность неадаптивного ремоделирования ЛЖ в 0,341 раза [23].

Одна из проблем выявления дисфункции миокарда у квалифицированных спортсменов заключается в том, что у большинства из них имеется лишь незначительное ухудшение переносимости физических нагрузок, которому атлеты не придают особого значения. Помимо этого, отдельные из них опасаются отстранения от тренировок и соревнований и скрывают свое неудовлетворительное самочувствие. Такая диссимуляция затрудняет диагностический поиск. Однако приблизительно 30% атлетов все же озвучивают свои жалобы на боли в области сердца, учащенное и усиленное сердцебиение, одышку и чувство нехватки воздуха, утомляемость в процессе выполнения привычных нагрузок [24].

Регулярные занятия спортом в детском и юношеском возрасте приводят к более быстрым и выраженным структурным и функциональным изменениям сердца, чем у старших атлетов, у которых последующие годы тренировок характеризуются определенной стабилизацией изменений в результате адаптации к воздействию уже привычных тренировочных нагрузок. Формирование «спортивного сердца» происходит через 1,5–2 года систематических спортивных тренировок [25, 26].

Результаты отдельных исследований показали, что юные спортсмены могут быть распределены на три группы, в одной из которых преобладают лица с нормотонией (48%) и ваготонии (52%) с нормальной или избыточной гипотонией в ночное время, гиперсимпатическими вегетативными реакциями, оптимальной адаптацией к ортостатической пробе и «вагозависимыми» нарушениями сердечного ритма (51%) – то есть с признаками физиологического «спортивного сердца».

Однако тем из них, которые после тренировки предъявляют жалобы на повышенную утомляемость, боли в области сердца и перебои в его работе, необходимы коррекция режима тренировок и ежегодные медицинские осмотры для динамической оценки состояния сердечно-сосудистой системы. Для следующей группы характерна исходная симпатикотония, преобладание лиц с нормотонией или гипертонией и синусовой тахикардией, что характерно для выраженной лабильности вегетативной нервной системы, недостатка резервных возможностей сердца, возможной симпатической перетренированности и «предпатологического спортивного сердца». Наконец, для третьей группы юных спортсменов характерны нормотония, лабильная и стабильная гипертония, постуральная ортостатическая тахикардия, пресинкопальные состояния. Среди них много субъектов с устойчивой синусовой брадикардией, миграцией водителя ритма, эктопическими ритмами и синоатриальной блокадой. При этом у 71% из них аритмии регистрируются в процессе нагрузочных тестов. Следовательно, представителям данной группы свойственны выраженные вегетативные расстройства, характерные для «парасимпатической перетренированности», истощения резервных возможностей сердечно-сосудистой системы и формирования патологического «спортивного сердца». В связи с этим они нуждаются в комплексном медицинском обследовании, динамическом наблюдении и коррекции состояния, а вопрос о продолжении занятий спортом в отношении них должен решаться спортивным кардиологом [27].

Таким образом, неадаптивное ремоделирование сердечно-сосудистой системы возможно уже в самом начале спортивной карьеры, что свидетельствует о необходимости тщательного медицинского контроля как в отношении взрослых, так и в детском и юношеском спорте [28].

Структурные и функциональные критерии адаптивного ремоделирования сердца спортсмена

Различают «немодифицируемые» и «модифицируемые» факторы риска патологического ремоделирования миокарда под влиянием физических нагрузок. Первые включают пол, возраст, спортивный стаж, полиморфизм генов, отвечающих за вазоконстрикцию, вазодилатацию, клеточный рост, процессы гомеостаза соединительной ткани, апоптоз и старение и практически не подлежат контролю извне. Ко вторым относятся подлежащие коррекции патологические процессы в организме, негативно влияющие на структуру и функции миокарда, в частности, стресс-индуцированную иммуносупрессию, которая встречается почти у 40% профессиональных спортсменов и является причиной высокой интеркуррентной заболеваемости верхних дыхательных путей. Кроме того, негативную роль играют очаги хронической инфекции (например, хронического тонзиллита, кариеса, воспалительных заболеваний ки-

шечника, в частности, дисбактериоза и т.п.) [29]. Влияние этих состояний на сердечную мышцу заключается в образовании эндогенных токсинов, изменении Т-клеточного звена иммунитета, образовании провоспалительных цитокинов и продукции антимиеокардиальных антител. Интересно, что увеличение титров последних обнаруживают не только при наличии инфекционных факторов риска, но и при неадекватных режимах тренировок, вегетативной дисфункции, коллагенопатиях и малых сердечных аномалиях при MASS-фенотипе (пролапс митрального клапана (Mitral valve prolapse), расширение аорты (Aortic dilatation), изменения кожи (Skin) и костей скелета (Skeleton). Наряду с физическим напряжением подтвержден существенный вклад экстремальных психологических нагрузок в формирование стрессорной миокардиодистрофии [30]. Интересно, что у атлетов, демонстрирующих стабильный рост спортивных достижений и адекватную адаптацию кардиореспираторной системы на нагрузочные тесты, имеется тенденция к уменьшению уровня провоспалительных цитокинов. В тоже время, у юных атлетов со сниженными показателями транспорта кислорода при тестах с нагрузкой повышена концентрация TNF- α и титры аутоантител к проводящей системе сердца, что можно рассматривать как предвестник стресс-индуцированных кардиопатий вследствие перенапряжения. В этой группе нередко выявляются лица с перечисленными ранее факторами риска патологического ремоделирования миокарда [31].

Несмотря на то, что «спортивное сердце» изучается уже более века, а методики исследования становятся все более информативными, эта тема до сих пор содержит много спорных вопросов. Безусловно, ремоделирование сердца атлета связано с интенсивными физическими нагрузками, однако при аналогичном режиме тренировок у ряда спортсменов структурные изменения миокарда более существенны, чем у остальных, в связи с чем, помимо влияния модифицируемых факторов риска, нельзя исключить генетическую составляющую этих процессов.

В результате многоэтапных исследований доказана роль генетических полиморфизмов в патологическом ремоделировании «спортивного сердца» и выявлены «гены предрасположенности», запускающие этот процесс при воздействии на человека неблагоприятных факторов внешней среды (в данном случае – физического перенапряжения). В настоящее время известно более 200 «спортивных полиморфизмов». Так, при сравнении групп спортсменов с гипертрофией миокарда и без нее авторы выявили достоверно большую частоту встречаемости аллелей ACE I (ген ангиотензинконвертирующего фермента) и NFATC4 Ala в первой группе, статистически значимые корреляции ACE I аллели с КДР ЛЖ и NFATC4 Ala аллели с толщиной задней стенки ЛЖ. Эти же аллели часто коррелировали с инверсией зубца T на ЭКГ, что позволило предположить их участие в изменении электрических процессов

в миокарде в результате объемных и регулярных физических нагрузок [32, 33]. Помимо этого, в формировании неадекватной гипертрофии миокарда у профессиональных спортсменов участвуют аллели полиморфных генов системы RAAS (D-ACE), аллелей генов-регуляторов жирового обмена (C-PPARA; C-PPARD), генов-регуляторов гипертрофического ответа (D-CNB), аллели G гена-регулятора роста эндотелия сосудов (G-VEGFA). Считается, что лица, имеющие в своем генотипе два и более гомозиготных сочетания (CC-PPARA, CC-PPARD, DD-CNB, Ala160Ala160 NFATC4, GG-VEGFA) составляют группу риска в плане патологических изменений сердечно-сосудистой системы при занятиях циклическими видами спорта, а DD-полиморфизм гена ACE расценивается как предрасположенность к формированию жизнеугрожающих состояний. Спортсменам с таким генотипом не показаны занятия большим спортом [34].

Помимо генов ACE, реакцию на физические нагрузки определяет эндотелиальная NO-синтаза (eNOS), которая отвечает за обусловленную NO вазодилатацию, предупреждение атеросклеротических процессов и тромбоза, а, значит, внезапной сердечной смерти (ВСС). Генотип 5/5 eNOS связан с хорошей переносимостью длительных физических нагрузок. Генотип A/A, напротив, ассоциируется со снижением эластичности сосудистой стенки, повышением артериального давления и гипертрофией миокарда [35].

Изучение корреляций генотипов спортсменов и биохимических показателей их метаболизма при физических нагрузках выявило связь хорошей переносимости тренировок атлетами с -9 аллелью гена BDRKB2 и I аллелью гена ACE, с генотипами ab гена NOS3 и XX гена ACTN3. Низкая переносимость нагрузок ассоциирована с +9 аллелью гена BDRKB2, R аллелью гена ACTN3 и D аллелью гена ACE. Увеличение показателей энергетического обмена и снижение переносимости нагрузок силового и скоростно-силового характера связаны с аллелями D гена ACE, -9 гена BDRKB2, с гена PPARA, рго гена PPARG и генотипами GG гена NOS3 и XX гена ACTN3. Высокая переносимость подобных нагрузок свойственна спортсменам с +9 аллелью гена BDRKB2, I аллелью гена ACE, генотипов GT по гену NOS3 и GG по гену PPARA [36].

В настоящее время составлена карта из нескольких десятков генов, имеющих отношение к спортивным результатам, включая те из них, которые определяют предрасположенность к занятиям спортом и, напротив, гены, наличие которых исключает высокие физические нагрузки, что, с одной стороны, призвано усовершенствовать отбор лиц, способных добиться наилучших результатов в определенном виде спорта, и, с другой стороны, предупредить развитие перетренированности и срыва адаптации, следовательно, избежать формирования патологического «спортивного сердца» и его осложнений.

Артериальная гипертензия в спорте и ее вклад в патологическое ремоделирование миокарда.

Значимым гемодинамическим показателем для спортсмена является артериальное давление (АД), а артериальная гипертензия (АГ) была и остается наиболее распространенным заболеванием сердечно-сосудистой системы атлетов и второй по частоте причиной их отвода от участия в соревнованиях. Так, уровень АД у 47% лиц, занимающихся американским футболом, к концу соревновательного сезона соответствует критериям прегипертензии, а у 14% – критериям АГ [37].

Распространенность АГ среди физически активных лиц на 50% меньше, чем у ведущих сидячий образ жизни [38]. В тоже время, на протяжении последнего десятилетия отмечается ее рост в среде молодых атлетов, что связывают с гиперактивацией симпатoadrenalовой системы в процессе чрезмерных нагрузок, перегрузкой сердца давлением или объемом, с травмами и электролитными нарушениями, гипертрофией, повышением жесткости миокарда и сосудистой стенки, приемом запрещенных веществ, повышающих АД. При этом спортсмены-гипертоники преимущественно выполняют изометрические и скоростно-силовые нагрузки [39, 40].

АГ страдают 5,6% спортсменов, среди которых преобладают лица, выполняющие статические нагрузки высокой мощности и аэробные нагрузки умеренной или высокой интенсивности. Более чем у половины атлетов-гипертоников выявлена гипертрофия ЛЖ, в том числе, пограничная. Учитывая, что при гипертрофии миокарда ЛЖ риск хронической сердечной недостаточности возрастает в 5 раз, летальность от ИБС – в 3-4 раза, ее без сомнения можно считать независимым фактором риска перечисленных состояний, а также тяжелых желудочковых аритмий [41].

Известный спортивный кардиолог Э.В.Земцовский описывает несколько типов реакции АД у спортсменов на нагрузку [42]. При физиологическом адекватном типе отмечается достаточное увеличение частоты сердечных сокращений (ЧСС) и систолического артериального давления (САД) при нагрузке и их быстрое восстановление после ее прекращения без патологических изменений на ЭКГ. Это характерно для здоровых и хорошо подготовленных спортсменов. При физиологическом неадекватном (хронотропном) ответе на нагрузку имеет место недостаточный подъем САД во время нагрузки и замедленное восстановление ЧСС после нее. Он наблюдается у здоровых, но плохо подготовленных или «перетренированных» спортсменов. Наконец, третий, патологический тип (или условно патологический), может быть представлен тремя вариантами реакции АД на нагрузку: 1) гипотензивным (падение АД при нагрузке); 2) гипертензивным (срочным) с неадекватным подъемом АД во время нагрузки; 3) гипертензивным (отставленным) с неадекватным подъемом АД в период восстановления. Автор считает,

что у молодых здоровых людей, занимающихся различными видами спорта, при нагрузках 150-200 Вт САД может достигать 170-200 мм рт. ст. При этом диастолическое артериальное давление (ДАД) меняется только на 5-10 мм рт. ст. [42].

В современной отечественной литературе критериями гипертензивной реакции АД у юных спортсменов считаются повышение САД более 160-180 мм рт. ст. (систолический тип), повышение АД более 160-180/80-100 мм рт. ст. (систоладиастолический тип) и повышение ДАД более 80-100 мм рт. ст. (диастолический тип). В Руководстве Американской ассоциации сердца по проведению нагрузочных проб у детей в качестве критерия прекращения пробы указывается САД, превышающее 250 мм рт. ст. и ДАД, превышающее 125 мм рт. ст. [43]. Испанские ученые считают, что САД при нагрузке может повышаться до 225-240 мм рт. ст. [44], что совпадает с результатами исследования Л.М.Макарова и соавт. [45], которые в процессе велоэргометрии, выполняемой по протоколу PWC170, достижения субмаксимальной частоты сердечных сокращений или усталости, обнаружили, что самые высокие цифры САД при нагрузке регистрируются у высокостатичных и высокодинамичных атлетов (водное поло, триатлон и т.п.) и объяснили это особенностями периферической гемодинамики спортсменов, тренирующихся на выносливость, и повышенным потреблением кислорода, которое приводит к более выраженному подъему ЧСС, ударного объема, минутного объема кровообращения и, следовательно, САД. Авторы считают, что у элитных спортсменов, тренирующихся на выносливость, повышение САД при максимальной физической нагрузке до 230 мм рт. ст. считается нормальным, если сопровождается отсутствием жалоб и адекватным приростом ЧСС (≥ 170 уд/мин). Для здоровых подростков при аналогичных условиях допускается повышение САД до 200 мм рт. ст. В данной работе также отмечено, что на первой ступени дозированной физической нагрузки прирост САД у юных элитных атлетов не должен превышать 65 мм рт. ст. Помимо этого они показали, что в процессе выполнения нагрузок у 10% обследуемых регистрируются нарушения процессов реполяризации, у 4% – желудочковая экстрасистолия, у 3% – суправентрикулярная экстрасистолия. При этом достоверных различий САД при максимальной нагрузке у спортсменов с указанными изменениями ЭКГ и без них отмечено не было [45].

Протоколом обследования при допуске к спортивным соревнованиям и сдаче норм ГТО (Приказ МЗ РФ от 1 марта 2016 г. №134н «О порядке организации оказания медицинской помощи лицам, занимающимся физической культурой и спортом (в том числе при подготовке и проведении физкультурных мероприятий и спортивных мероприятий), включая порядок медицинского осмотра лиц, желающих пройти спортивную подготовку, заниматься физической культурой и спор-

том в организациях и (или) выполнить нормативы испытаний (тестов) всероссийского физкультурно-спортивного комплекса «Готов к труду и обороне» предусмотрено только рутинное измерение АД. Однако, такой способ контроля обнаруживает начальные стадии АГ только у 1,2% молодых спортсменов. При этом не исключается «гипертония белого халата» или «офисная гипертония». Большой информативностью в диагностике гипертонии обладает суточное мониторирование АД (СМАД), с помощью которого выявляются недостаточное снижение АД в ночные часы («non-dipper») и высокая вариабельность САД у 3,6% атлетов, а у 7,1% спортсменов диагностируется АГ при абсолютно нормальных предшествующих результатах офисного измерения АД у большинства из них [46]. Еще более информативной является проба с дозированной физической нагрузкой, регистрирующая избыточную реакцию АД у 12,2% атлетов даже при отсутствии патологии по данным СМАД. Считают, что такая реакция АД имеет место при синдроме «перетренированности» миокарда и влечет за собой другие изменения со стороны сердца [47, 48].

На основании вышеизложенного представляется целесообразным включение СМАД и пробы с дозированной физической нагрузкой в перечень обязательных обследований юных спортсменов, у которых хотя бы однократно регистрировалось повышенное АД в покое.

Структура причин внезапной сердечной смерти в спорте

АГ у спортсменов является одной из возможных причин формирования гипертрофии ЛЖ. Последняя при описанных выше обстоятельствах считается одним из маркеров ВСС, которая среди спортсменов в 2,4 раза выше, чем в общей популяции, и чаще всего наступает вследствие аритмогенного синдрома – фибрилляции желудочков и желудочковой тахикардии без пульса, а также электромеханической диссоциации и асистолии без пульса (по разным данным – 56-80% всех случаев ВСС) [49, 50]. Под внезапной смертью в спорте подразумевают летальный исход, наступивший в течение часа с момента проявления острых симптомов и совпадающий по времени со спортивной деятельностью (непосредственно перед стартом, во время соревнования, сразу после финиша) при отсутствии внешних причин, которые сами по себе могли бы быть причиной смерти.

Средний возраст спортсменов, умерших внезапно, составляет 18±5 лет. 89% из них – мужчины, 55% – представители белой расы. В 80% случаев ВСС наступила непосредственно в процессе или сразу после физических нагрузок. Среди умерших преобладают баскетболисты (33%) и футболисты (25%) [51]. В футболе это обстоятельство объясняют высвобождением значительного количества катехоламинов, повышением агрегации тромбоцитов, обезвоживанием и нару-

шением электролитного баланса организма вследствие интенсивных динамических нагрузок, а, значит, наличием благоприятного фона для нарушения кровоснабжения миокарда и развития опасных для жизни аритмий. Для занятий баскетболом отбирают лиц с особенными антропометрическими данными (высоким ростом и длинными конечностями, то есть с «марфаноподобным» типом), многие из которых имеют врожденные малые аномалии развития сердечно-сосудистой системы, часто ассоциирующиеся с различными нарушениями ритма. ВСС у женщин чаще всего регистрируется в баскетболе и легкой атлетике [52].

Помимо аритмии, частой причиной ВСС атлетов старше 35 лет (2-25%) считается атеросклероз коронарных артерий (с разрывом или эрозиями единственной атеросклеротической бляшки). У 50% из них находят коронарный тромбоз [53]. Отдельную группу составляют лица с кардиальным X-синдромом, который особенно актуален для видов спорта с интенсивной динамической нагрузкой (бег, лыжи, велогонки и т.п.). Врожденные аномалии коронарных артерий обнаруживаются у 2-19% внезапно умерших атлетов. Наиболее распространенным среди них вариантом является отхождение ствола левой коронарной артерии от переднего синуса Вальсальвы с последующим поворотом под острым углом и расположением между стволом легочной артерии и передней частью аорты. Реже при вскрытии обнаруживают отхождение правой коронарной артерии от левого коронарного синуса, врожденную гипоплазию коронарных артерий и аномальное отхождение ствола или ветвей левой коронарной артерии от ствола легочной артерии. У 3% внезапно умерших спортсменов обнаружены миокардиальные мостики [54].

Особое место среди причин ВСС молодых спортсменов занимает гипертрофическая кардиомиопатия, диагностируемая у 16-52% погибших преимущественно афроамериканского происхождения [55]. От 3 до 12% атлетов умирают от острой сердечной недостаточности и фатальной аритмии вследствие миокардита, частыми возбудителями которого являются парвовирус В19, человеческий вирус герпеса 6, Коксаки вирус, аденовирус [56]. Дилатационная кардиомиопатия в структуре ВСС спортсменов составляет 2%, разрыв восходящего отдела аорты с тампонадой перикарда – 3%, аортальный стеноз – 3%, другие заболевания миокарда (рестриктивная кардиомиопатия, саркоидоз, некомпактный миокард) – 5%. У 4% умерших спортсменов обнаружен пролапс митрального клапана. Факторами повышенного риска ВСС при это патологии называют синдромы удлинённого интервала QT, Бругада, предвозбуждения желудочков, катехоламинергическую желудочковую тахикардию. Отдельное место занимает фибрилляция желудочков вследствие ушиба (contusios) или сотрясения сердца (commotio cordis) при попадании бейсбольного мяча и травм у единоборцев [57].

Таким образом, ВСС в спорте ассоциируют как с известной, так и с недиагностированной при жизни структурной или электрофизиологической патологией сердца. Ее вероятность возрастает при постепенном развитии патологических кардиальных изменений на фоне бессистемных тренировок, выполнении чрезмерных нагрузок, перенапряжении во время острых инфекционных заболеваний, при наличии генетических предпосылок к развитию дизадаптации, а также при использовании фармакологических препаратов, в том числе допинговых средств. Применение последних относится к частым несердечным причинам внезапной смерти, к которым приковано пристальное внимание мировой общественности [58]. В настоящее время перечень препаратов для допинга включает около 150 средств, среди которых присутствуют стимуляторы центральной и периферической нервной системы, наркотические обезболивающие средства, анаболические стероиды, диуретики, пептидные гормоны, каждый из которых по-своему негативно воздействует на сердечно-сосудистую систему [59].

Заключение

На протяжении последнего полувека популярность занятий спортом среди взрослого и детского населения во всем мире неуклонно и существенно возрастает. Атлеты, среди которых много юных и молодых людей, составляют совершенно особую категорию граждан, демонстрирующих, насколько высоки резервные возможности организма человека. Вместе с тем результаты многочисленных исследований указывают на неуклонный рост преморбидных и патологических изменений их кардиореспираторной системы. Поэтому своевременная диагностика кардиальной патологии у атлетов и предупреждение патологического ремоделирования «физиологического спортивного сердца» является неотъемлемой частью и необходимым условием качественного медицинского сопровождения как ква-

лифицированных, так и юных спортсменов. Эффективными неинвазивными методами оценки показателей гемодинамики, размеров, геометрии и функционального состояния сердца являются ЭКГ, холтеровское мониторирование ЭКГ и АД, ЭхоКГ, пробы с физической нагрузкой. С их помощью можно корректировать тренировочный процесс с целью улучшения результативности спортсменов и предупреждения предпатологических и патологических изменений сердца и сосудов, а также, еще до начала спортивной карьеры, проводить обследование будущих атлетов на предмет заболеваний, ассоциированных с риском ВСС. Большие надежды медицина возлагает и на генетические методы спортивного отбора. В условиях провинциальных городов и сельских поселений, в которых часто отсутствуют специализированные физкультурные диспансеры, особая роль в сохранении здоровья физически активных лиц отводится педиатрам и врачам общей практики, а также детским и взрослым кардиологам, которые в современных условиях обязаны обладать достаточными знаниями о «спортивном сердце», так как наравне с тренерами несут ответственность за благополучие спортсмена. Авторы надеются, что представленный обзор литературы будет полезен для представителей всех перечисленных специальностей.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Источники финансирования

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

1. Ланг Г.Ф. Спорт и система кровообращения // Учебник внутренних болезней. Том 1. Часть 1. Болезни системы кровообращения / под ред. проф. Г.Ф.Ланга. Ленинград: Наркомздрав СССР, Медгиз, Ленинградское отделение, 1938. С.412–418.
2. Prior D.L., La Gerche A. The athlete's heart // Heart. 2012. Vol.98, №12. P.947–955. doi: 10.1136/heartjnl-2011-301329
3. Chandra N., Bastiaenen R., Papadakis M., Sharma S. Sudden cardiac death in young athletes, practical challenges and diagnostic dilemmas // J. Am. Coll. Cardiol. 2013. Vol.61, №10. P.1027–1040. doi: 10.1016/j.jacc.2012.08.1032
4. Sharma S., Merghani A., Mont L. Exercise and the heart: the good, the bad, and the ugly // Eur. Heart J. 2015. Vol.36, №23. P.1445–1453. doi: 10.1093/eurheartj/ehv090
5. Яковлева Л.В., Фархутдинов Р.Р., Юмалин С.Х., Табынгулова С.Х. Оценка функционального состояния сердечно-сосудистой системы и свободнорадикального окисления у юных спортсменов // Вестник новых медицинских технологий. 2014. №1. С.69–76. doi: 10.12737/5021
6. Basavarajaiah S., Wilson M., Whyte G., Shah A., Mc Kenna W., Sharma S. Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in highly trained athletes: relevance to pre-participation screening // J. Am. Coll. Cardiol. 2008. Vol.51, №10. P.1033–1039. doi: 10.1016/j.jacc.2007.10.055
7. Gavrilova E.A. Myocardial Hypertrophy in Athletes: Physiology or Pathology? // Human Physiology. 2018. Vol.44, №3. P.314–319. doi: 10.1134/S0362119718030064

8. Galanti G., Stefani L., Mercuri R., Mascherin I. G., Di Tante V., Toncelli L. Left ventricular remodeling and the athlete's heart, irrespective of quality load training // *Cardiovasc. Ultrasound*. 2016. Vol.14, №1. Article number: 46. doi: 10.1186/s12947-016-0088-x
9. Гаврилова Е.А., Земцовский Э.В. Внезапная сердечная смерть и гипертрофия миокарда у спортсменов // *Вестник аритмологии*. 2010. №62. С.59–62.
10. Caselli S., Maron M.S., Urbano-Moral J.A., Pandian N.G., Maron B.J., Pelliccia A. Differentiating left ventricular hypertrophy in athletes from that in patients with hypertrophic cardiomyopathy // *Am. J. Cardiol*. 2014. Vol.114, №9. P.1383–1389. doi: 10.1016/j.amjcard.2014.07.070
11. Вайханская Т.Г. Спортивное сердце или кардиомиопатия? Дифференциальные критерии и парадигмы // *Кардиология в Беларуси*. 2015. №4(41). С.105–117.
12. Pelliccia A., Di Paolo F.M. Athletes with abnormal repolarization pattern and structurally normal heart can participate in competitive sport: A lifelong experience // *J. Am. Coll. Cardiol*. 2011. Vol.58, №8. P.883–884.
13. Brosnan M.G., Rakhit D. Differentiating Athlete's Heart From Cardiomyopathies – The Left Side // *Heart Lung Circ*. 2018. Vol.27, №9. P.1052–1062. doi: 10.1016/j.hlc.2018.04.297
14. Киндерманн В., Шараг Й. Физиологическая гипертрофия сердца («Спортивное сердце») // *Лечебная физкультура и спортивная медицина*. 2015. №4(130). С.39–47.
15. Смоленский А.В., Михайлова А.В., Борисова Ю.А., Белоцерковский З.Б., Любина Б.Г. Татарина А.Ю. Особенности физиологического ремоделирования спортивного сердца // *Лечебная физкультура и спортивная медицина*. 2012. №6(102). С.9–14.
16. Белоедов А.В., Елисеев Е.В., Трегубова М.В. К вопросу о повышении информативности эхо- и электрокардиографии в диагностике гипертрофии миокарда у единоборцев // *Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Образование, здравоохранение, физическая культура*. 2012. №42(301). С.156–157.
17. Скуратова Н.А. «Спортивное» сердце: критерии, дифференциальная диагностика // *Кардиология в Беларуси*. 2017. Т.9, №5. С.980–990.
18. Талибов А.Х. Предикторы ремоделирования и функционального состояния сердечно-сосудистой системы спортсменов // *Физическое воспитание и спортивная тренировка*. 2018; №1(23). С.71–82.
19. Юмалин С.Х., Яковлева Л.В., Кофман Р.М. Состояние миокарда у юных спортсменов по данным эхокардиографии // *Современные проблемы науки и образования*. 2014. №3. С.447.
20. Горбенко А.В., Скирденко Ю.П., Николаев Н.А., Замахина О.В., Шерстюк С.А., Ершов А.В. Спортивное сердце: норма или патология // *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2020. Т.24, №2. С.16–25. doi: <http://dx.doi.org/10.21688/1681-3472-2020-2-16-25>
21. Татарина А.Ю., Смоленский А.В., Михайлова А.В. Тканевая доплерография в оценке диастолической функции миокарда левого желудочка у спортсменов // *Вестник новых медицинских технологий*. 2013. Т.20, №4. С. 57–61.
22. Ponikowski P., Voors A.A., Anker S.D., Bueno H., Cleland G.G.F., Coats A.J.S., Falk V., González-Juanatey J.R., Harjola V.P., Jankowska E.A., Jessup M., Linde C., Nihoyannopoulos P., Parissis J.T., Pieske B., Riley J.P., Rosano G.M.C., Ruilope L.M., Ruschitzka F., Rutten F.H., van der Meer P. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC // *Eur. Heart J*. 2016. Vol.37, №27. P.2129–2200. doi: 10.1093/eurheartj/ehw128
23. Талибов А.Х., Поляничко М.В. Показатели неадаптивного ремоделирования миокарда левого желудочка у спортсменов различных видов спорта // *Ученые записки Университета им. П.Ф.Лесгафта*. 2017. №3(145). С.209–213.
24. Безуглая В. Перенапряжение сердечно-сосудистой системы у спортсменов: причины, проявления, диагностика, профилактика // *Наука в олимпийском спорте*. 2016. №1. С.33–39.
25. Казакова О.А., Иванова Л.А., Данилова А.М., Курочкина Н.Е., Шеханин В.И. Модельные характеристики морфофункциональных особенностей подростков 11-13 лет в тренировочном процессе // *Ученые записки университета им. П.Ф.Лесгафта*. 2020. №1(179). С.155–158. doi: 10.34835/issn.2308-1961.2020.1.p155-158
26. Малах О.Н. Показатели морфометрии левого желудочка сердца юных спортсменов-пловцов в зависимости от спортивной квалификации и направленности тренировочного процесса // *Наука и спорт: современные тенденции*. 2015. Т.8, №3. С.70–74.
27. Яковлева Л.В., Юмалин С.Х., Кофман Р.М. Функциональное состояние миокарда по данным эхокардиографии у юных хоккеистов в спорте высоких достижений // *Вестник Башкирского государственного медицинского университета*. 2016. №4 (Приложение). С.149–153.
28. Weiner R.B., Wang F., Isaacs S.K., Malhotra R., Berkstresser B., Kim J.H., Hutter A.M. Jr, Picard M.H., Wang T.J., Baggish A.L. Blood pressure and left ventricular hypertrophy during American-style football participation // *Circulation*. 2013. Vol.128, №5. P.524–531. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.003522

29. Дегтярева Е.А. Инновационные методы изучения предикторов патологической трансформации спортивного сердца // Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты: сб. науч. трудов. М.: РАЕН, 2017. С.284–300.
30. Choi S.J., Park S.Y., Kwak Y.S. The Clinical Evaluation between Overtraining Syndrome and Exercise-related Immunity // *Journal of Life Science*. 2015. Vol.25, №11. P.1324–1330 (in Korean). doi: 10.5352/JLS.2015.25.11.1324
31. Дегтярева Е.А., Жданова О.И., Муханов О.А., Линде Е.В., Кантемирова М.Г. Иммунные и инфекционные факторы риска патологической трансформации «спортивного сердца» в детском и юношеском спорте // *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2010. Т.55, №3. С.47–51.
32. Линде Е.В., Ахметов И.И., Орджоникидзе З.Г. Генетические факторы и формирование гипертрофии миокарда левого желудочка у высококвалифицированных спортсменов // *Наука и спорт: современные тенденции*. 2014. Т.3, №2. С.32–42.
33. Ахметов И.И., Мустафина Л.Д., Насибулина Э.С. Медико-генетическое обеспечение детско-юношеского спорта // *Практическая медицина*. 2012. №7(62). С.62–66.
34. Бершова Т.В., Баканов М.И., Смирнов И.Е., Санфирова В.М., Корнеева И.Т., Поляков С.Д., Соловьева Ю.В. Изменения функционального состояния сосудистого эндотелия у юных спортсменов различной квалификации // *Российский педиатрический журнал*. 2016. Т.19, №1. С.14–19. doi: 10.18821/1560-9561-2016-19(1)-14-19
35. Khaki K.F., Yaghoubi A., Ghojzadeh M., Rahbani N.M. Association between T-786C polymorphism of endothelial nitric oxide synthase gene and level of the vessel dilation factor in patients with coronary artery disease // *Molecular Biology Research Communications*. 2012. Vol.1. P.1–7. doi: 10.22099/MBRC.2012.198
36. Рыбина И.Л. Особенности биоэнергетических характеристик мышечной деятельности спортсменов с различными полиморфными вариантами гена ACE // *Теория и практика физической культуры*. 2016. №3. С.61–65.
37. Flynn J.T., Kaelber D.C., Baker-Smith C.M., Blowey D., Carroll A.E., Daniels S.R., de Ferranti S.D., Dionne J.M., Falkner B., Flinn S.K., Gidding S.S., Goodwin C., Leu M.G., Powers M.E., Rea C., Samuels J., Simasek M., Thaker V.V., Urbina E.M. Clinical Practice Guideline for Screening and Management of High Blood Pressure in Children and Adolescents // *Pediatrics*. 2017. Vol.140, №3. e20171904. doi: 10.1542/peds.2017-1904
38. Меньшикова И.Г., Магальяс Е.В., Скляр И.В., Квасникова Ю.В., Лоскутова Н.В. Особенности ремоделирования сердца у пациентов с артериальной гипертензией на фоне комбинированной терапии // *Амурский медицинский журнал*. 2019. 3(27). С.9–13.
39. Carlson D., Dieberg G., Hess N.C., Millar P.G., Smart N.A. Isometric Exercise Training for Blood Pressure Management: A Systematic Review and Meta-analysis // *Hypertens. Res*. 2014. Vol.89, №3. P.327–334. doi: 10.1016/j.mayocp.2013.10.030
40. Фомина Н.В., Ронжина О.А., Смакотина С.А. Особенности ремоделирования миокарда левого желудочка у атлетов с артериальной гипертензией // *Российский кардиологический журнал*. 2015. №4. С.13–17. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2015-4-13-17>
41. Смоленский А.В., Михайлова А.В., Татаринова А.Ю. Артериальная гипертензия у спортсменов и ремоделирование спортивного сердца // *Международный журнал сердца и сосудистых заболеваний*. 2017. Т.5, №14. С.36–45.
42. Земцовский Э.В. Спортивная кардиология. СПб.: Гиппократ, 1995. 448 с. ISBN: 5-8232-0166-4
43. Muntner P., Becker R.C., Calhoun D., Chen D., Cowley A.W., Flynn J.T., Grobe J.L., Kidambi S., Kotchen T.A., Lackland D.T., Leslie K.K., Li Yi, Liang M., Lloyd A., Mattson D.L., Mendizabal B., Mitsnefes M., Nair A., Pierce G.L., Pollock J.S., Safford M.M., Santillan M.K., Sigmund C.D., Thomas S.J., Urbina E.M. Introduction to the American Heart Association’s hypertension strategically focused research network // *Hypertension*. 2016. Vol.67, №4. P.674–680. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.06433
44. Sieira M.C., Ricart A.O., Estrany R.S. Blood pressure response to exercise testing. *Apunts Med. Esport*. 2010. Vol.45, №167. P.191–200.
45. Макаров Л.М., Федина Н.Н., Комолятова В.Н., Беспорточный Д.А., Киселева И.И. Нормативные параметры артериального давления у юных элитных атлетов при пробе с дозированной физической нагрузкой // *Педиатрия*. 2015. Т.94, №2. С.102–105.
46. Широкова А.А., Балькова Л.А., Ивянский С.А., Варлашина К.Н., Солдатов Ю.О., Казанкина В.С., Валиуллова А.Р. Возможности суточного мониторинга артериального давления и пробы с дозированной физической нагрузкой в диагностике артериальной гипертензии у юных атлетов // *Практическая медицина*. 2019. Т.17, №2. С.70–79.
47. De Venecia T., Lu M., Figueredo V.M. Hypertension in young adults // *Postgrad. Med*. 2016. Vol.128, №2. P.201–207. doi: 10.1080/00325481.2016.1147927
48. *Cardiopulmonary Exercise Testing in Children and Adolescents* / T.W.Rowland (ed.). Human Kinetics Publishers, 2018. 288 p. ISBN: 9781492544470
49. Hafe P.V., Freitas J., Costa O. From Cardiac Preparticipation Evaluation to Sudden Cardiac Death // *Injuries and*

Health Problems in Football / ed. by J.Espregueira-Mendes et al. Springer, 2017. P.515–523. ISBN: 978-3-662-53924-8. doi: 10.1007/978-3-662-53924-8_45

50. Löllgen H., Leyk D., Hansel J. The pre-participation examination for leisure time physical activity general medical and cardiological issues // *Dtsch Arztebl. Int.* 2010. Vol.107, №42. P.742–749. doi: 10.3238/arztebl.2010.0742

51. Maron B.J., Doere J.J., Haas T.S., Tierney D.M., Mueller F.O. Sudden death in young competitive athletes: analysis of 1866 deaths in the United States, 1980–2006 // *Circulation.* 2009; Vol.119, №8. P.1085–1092. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.804617

52. Madsen N.L., Drezner J.A., Salerno J.C. Sudden cardiac death screening in adolescent athletes: an evaluation of compliance with national guidelines // *Br. J. Sports Med.* 2013. Vol.47, №3. P.172–177. doi: 10.1136/bjsports-2012-091670

53. Смоленский А.В. К вопросу о внезапной смерти в спорте // *Терапевт.* 2017. №11. С.4–8.

54. Пиголкин Ю.И., Шилова М.А., Захаров С.Н., Середа А.П., Жолинский А.В., Круглова И.В., Шигеев С.В. Внезапная смерть лиц молодого возраста во время физической нагрузки // *Судебно-медицинская экспертиза.* 2019. Т.62, №1. С.50–55. doi: 10.17116/sudmed20196201150

55. Drezner J.A., Ashley E., Baggish A.L., Börjesson M., Corrado D., Owens D.S., Patel A., Pelliccia A., Vetter V.L., Ackerman M.J., Anderson J., Asplund C.A., Cannon B.C., DiFiori J., Fischbach P., Froelicher V., Harmon K.G., Heidbuchel H., Marek J., Paul S., Prutkin J.M., Salerno J.C., Schmied C.M., Sharma S., Stein R., Wilson M. Abnormal electrocardiographic findings in athletes: recognizing changes suggestive of cardiomyopathy // *Br. J. Sports Med.* 2013. Vol.47, №3. P.137–152. doi: 10.1136/bjsports-2012-092069

56. Ходасевич Л.С., Чупрова С.Н., Абакумов А.А., Хечумян А.Ф. Внезапная сердечная смерть в спорте: факторы риска, нозологическая характеристика, направления профилактики // *Спортивная медицина. Наука и практика.* 2016. Т.6, №3. С.76–84. doi: 10.17238/ISSN2223-2524.2016.3.76

57. Аббасов И.М., Скребов Р.В., Кузьмичев Д.Е., Мисников П.В. Современные представления о причинах внезапной смерти, в том числе в спорте и их судебно-медицинская диагностика // *Здравоохранение Югры: опыт и инновации.* 2020. №1. С.67–81.

58. Бокерия О.Л., Испирян А.Ю. Внезапная сердечная смерть у спортсменов // *Анналы аритмологии.* 2013. Т.10, №1. С.31–39. doi:10.15275/annaritm.2013.1.5

59. Ворожко Ю.В., Седаш Л.С. Антидопинговая политика в спорте: легкая атлетика // *Проблемы совершенствования физической культуры, спорта и олимпизма.* 2018. №1. С.187–191.

REFERENCES

1. Lang G.F., editor. Sports and Circulatory System. In: Textbook to Internal Medicine. Volume 1. Part 1. Diseases of the Circulatory System. Leningrad: Medgiz; 1938: 412–418 (in Russian).

2. Prior D.L., La Gerche A. The athlete's heart. *Heart* 2012; 98(12):947–955. doi: 10.1136/heartjnl-2011-301329

3. Chandra N., Bastiaenen R., Papadakis M., Sharma S. Sudden cardiac death in young athletes, practical challenges and diagnostic dilemmas. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2013; 61(10):1027–1040. doi: 10.1016/j.jacc.2012.08.1032

4. Sharma S., Merghani A., Mont L. Exercise and the heart: the good, the bad, and the ugly. *Eur. Heart J.* 2015; 36(23):1445–1453. doi: 10.1093/eurheartj/ehv090

5. Yakovleva L.V., Farkhutdinov R.R., Yumalin S.H., Tabyngulova S.H. Assessment of functional state of cardio-vascular system and free radical oxidation processes in young athletes. *Journal of New Medical Technologies* 2014; (1):69–76. doi: 10.12737/5021 (in Russian).

6. Basavarajaiah S., Wilson M., Whyte G., Shah A., Mc Kenna W., Sharma S. Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in highly trained athletes: relevance to pre-participation screening. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2008; 51(10):1033–1039. doi: 10.1016/j.jacc.2007.10.055

7. Gavrilova E.A. Myocardial Hypertrophy in Athletes: Physiology or Pathology? *Human Physiology* 2018; 44(3):314–319. doi: 10.1134/S0362119718030064

8. Galanti G., Stefani L., Mercuri R., Mascherini G., Di Tante V., Toncelli L. Left ventricular remodeling and the athlete's heart, irrespective of quality load training. *Cardiovasc. Ultrasound* 2016; 14(1):46. doi: 10.1186/s12947-016-0088-x

9. Gavrilova E.A., Zemtsovsky E.V. Sudden cardiac death and myocardial hypertrophy in athletes. *Journal of Arrhythmology* 2010; 62(62):59–62 (in Russian).

10. Caselli S., Maron M.S., Urbano-Moral J.A., Pandian N.G., Maron B.J., Pelliccia A. Differentiating left ventricular hypertrophy in athletes from that in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Am. J. Cardiol.* 2014; 114(9):1383–1389. doi: 10.1016/j.amjcard.2014.07.070

11. Vaikhanskaya T. Athlete's heart or cardiomyopathy? Differential criteria and paradigm. *Cardiology in Belarus* 2015; (4):105–117 (in Russian).

12. Pelliccia A., Di Paolo F.M. Athletes with abnormal repolarization pattern and structurally normal heart can participate in competitive sport: A lifelong experience. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2011; 58(8):883–884.

13. Brosnan M.G., Rakhit D. Differentiating Athlete's Heart From Cardiomyopathies – The Left Side. *Heart Lung Circ.* 2018; 27(9):1052–1062. doi: 10.1016/j.hlc.2018.04.297
14. Kindermann W., Scharhag J. Physiological cardiac hypertrophy (athlete's heart). *Lechebnaya fizkul'tura i sportivnaya meditsina* 2015; (4):39–47 (in Russian).
15. Smolenskiy A.V., Mikhaylova A.V., Borisova Yu.A., Belotserkovskiy Z.B., Lyubina B.G. Tatarinova A.Yu. The specific features of a physiological remodeling of «an athlete's heart» *Lechebnaya fizkul'tura i sportivnaya meditsina* 2012; (6):9–14 (in Russian).
16. Beloedov A.V., Eliseev E.V., Tregubova M.V. The problem of the increase information echo- and electrocardiography in the diagnosis of myocardial hypertrophy the athletes. *Bulletin of the South Ural State University. Series: education, health care, physical education* 2012; (42):156–157 (in Russian).
17. Skuratova N.A. Athletic heart: criteria, differential diagnostics. *Cardiology in Belarus* 2017; 9(5):980–990 (in Russian).
18. Talibov A.H. Predictors of cardiac remodeling and cardio-vascular fitness of athletes. *Physical Education and Sports Training* 2018; (1):71–82 (in Russian).
19. Yumalin S.Kh., Yakovleva L.V., Kofman R.M. State of the myocardium in young athletes by echocardiography. *Modern Problems of Science and Education* 2014; (3):447 (in Russian).
20. Gorbenko A. V., Skirdenko Yu. P., Nikolaev N. A., Zamahina O. V., Sherstyuk S. A., Ershov A. V. Physiological or pathological hypertrophy of athlete's heart syndrome. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokhirurgiya = Circulation Pathology and Cardiac Surgery* 2020; 24(2):16–25 (in Russian). <http://dx.doi.org/10.21688/1681-3472-2020-2-16-25>
21. Tatarinova A.Yu., Smolenskiy A.V., Mikhaylova A.V. Evaluation of the diastolic function of the left ventricular by means of tissue Doppler. *Journal of New Medical Technologies* 2013; 20 (4):57–61 (in Russian).
22. Ponikowski P., Voors A.A., Anker S.D., Bueno H., Cleland G.G.F., Coats A.J.S., Falk V., González-Juanatey J.R., Harjo-la V.P., Jankowska E.A., Jessup M., Linde C., Nihoyannopoulos P., Parissis J.T., Pieske B., Riley J.P., Rosano G.M.C., Ruilope L.M., Ruschitzka F., Rutten F.H., van der Meer P. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the Europe-an Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur. Heart J.* 2016; 37(27):2129–2200. doi: 10.1093/eurheartj/ehw128
23. Talibov A.H., Polyanchko M.V. Indicators of non-adaptive remodeling of the myocardium of left ventricle among athletes of various sports. *Uchenye zapiski universiteta imeni P.F.Lesgafta* 2017; (3):209–213 (in Russian).
24. Bezuglaia V. Overexertion of the cardiovascular system in athletes: causes, symptoms, diagnosis, prevention. *Science in Olympic sports* 2016; 1:33–39 (in Russian).
25. Kazakova O.A., Ivanova L.A., Danilova A.M., Kurochkina N.E., Shehanin V.I. Model characteristics of morpho-functional features of teenagers aged 11–13 years old in the training process. *Uchenye zapiski universiteta imeni P.F.Lesgafta* 2020; (1):155–158 (in Russian). doi: 10.34835/issn.2308-1961.2020.1.p155-158
26. Malakh O.N. Indicators morphometry of the heart left ventricle of young sportsmen-swimmers dependent on sports qualification and training process direction. *Science and Sport: Current Trends* 2015; 8(3):70–74 (in Russian).
27. Yakovleva L.V., Yumalin S.H., Kofman R.M. Functional state of myocardium according to echocardiography at young hockey players in the sport of high achievements. *Bulletin of the Bashkir State Medical University* 2016; Suppl.4:49–153 (in Russian).
28. Weiner R.B., Wang F., Isaacs S.K., Malhotra R., Berkstresser B., Kim J.H., Hutter A.M. Jr, Picard M.H., Wang T.J., Baggish A.L. Blood pressure and left ventricular hypertrophy during American-style football participation. *Circulation* 2013; 128(5). P.524–531. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.003522
29. Degtyareva E.A. Innovative methods of studying the predictors of the pathological transformation of the sports heart. In: Unconventional natural resources, innovative technologies and products. Moscow: Russian Academy of Natural Sciences; 2017: 284–300 (in Russian).
30. Choi S.J., Park S.Y., Kwak Y.S. The Clinical Evaluation between Overtraining Syndrome and Exercise-related Immunity. *Journal of Life Science* 2015; 25(11):1324–1330 (in Korean). doi: 10.5352/JLS.2015.25.11.1324
31. Degtyareva E.A., Zhdanova O.I., Mukhanov O.A., Linde E.V., Kantemirova M.G. Immune and infection risk factors for pathological sports heart transformation in pediatric and juvenile sports. *Ros. Vestn. Perinatol. Pediat.* 2010; 55 (3):47–51 (in Russian).
32. Linde E.V., Ahmetov I.I., Ordzhonikidze Z.G. Genetic factors and formation of left ventricular hypertrophy in elite athletes. *Science and Sport: Current Trends* 2014; 3(2):32–42 (in Russian).
33. Ahmetov I.I., Mustafina L.D., Nasibulina E.S. Medical-genetic support to the children and youth sports. *Practical Medicine* 2012; (7):62–66 (in Russian).
34. Bershova T.V., Bakanov M.I., Smirnov I.E., Sanfirova V.M., Korneeva I.T., Polyakov S.D., Soloviova Yu.V. Changes in the functional state of the vascular endothelium in young athletes of varying skill levels. *Russian Pediatric Journal* 2016; 19(1):14–19 (in Russian). doi: 10.18821/1560-9561-2016-19(1)-14-19

35. Khaki K.F., Yaghoubi A., Ghojzadeh M., Rahbani N.M. Association between T-786C polymorphism of endothelial nitric oxide synthase gene and level of the vessel dilation factor in patients with coronary artery disease. *Molecular Biology Research Communications* 2012; 1:1–7. doi: 10.22099/MBRC.2012.198
36. Rybina I.L. Muscle work bioenergetics specifics of athletes with various polymorphic variants of ACE gene. *Teoriya i praktika fizicheskoy kultury* 2016; (3):61–65 (in Russian).
37. Flynn J.T., Kaelber D.C., Baker-Smith C.M., Blowey D., Carroll A.E., Daniels S.R., de Ferranti S.D., Dionne J.M., Falkner B., Flinn S.K., Gidding S.S., Goodwin C., Leu M.G., Powers M.E., Rea C., Samuels J., Simasek M., Thaker V.V., Urbina E.M. Clinical Practice Guideline for Screening and Management of High Blood Pressure in Children and Adolescents. *Pediatrics* 2017; 140(3):e20171904. doi: 10.1542/peds.2017-1904
38. Menshikova I.G., Magalyas E.V., Sklyar I.V., Kvasnikova Yu.V., Loskutova N.V. Features of heart remodeling in patients with arterial hypertension on the background of combination therapy. *Amur Medical Journal* 2019; (3):9–13 (in Russian).
39. Carlson D., Dieberg G., Hess N.C., Millar P.G., Smart N.A. Isometric Exercise Training for Blood Pressure Management: A Systematic Review and Meta-analysis. *Hypertens. Res.* 2014; 89(3):327–334. doi: 10.1016/j.mayocp.2013.10.030
40. Fomina N.V., Ronzhina O.A., Smakotina S.A. Special properties of the left ventricle myocardium remodeling in athletes with arterial hypertension. *Russian Journal of Cardiology* 2015; (4):13–17 (in Russian). <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2015-4-13-17>
41. Smolensky A.V., Mikhailova A.V., Tatarinova A.Yu. Arterial hypertension and heart remodeling in athletes. *International Heart and Vascular Diseases Journal* 2017; 5(14):36–45 (in Russian).
42. Zemtsovsky E.V. Sports cardiology. St. Petersburg: Gippokrat; 1995 (in Russian). ISBN: 5-8232-0166-4
43. Muntner P., Becker R.C., Calhoun D., Chen D., Cowley A.W., Flynn J.T., Grobe J.L., Kidambi S., Kotchen T.A., Lackland D.T., Leslie K.K., Li Yi., Liang M., Lloyd A., Mattson D.L., Mendizabal B., Mitsnefes M., Nair A., Pierce G.L., Pollock J.S., Safford M.M., Santillan M.K., Sigmund C.D., Thomas S.J., Urbina E.M. Introduction to the American Heart Association's hypertension strategically focused research network. *Hypertension* 2016; 67(4):674–680. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.06433
44. Sieira M.C., Ricart A.O., Estrany R.S. Blood pressure response to exercise testing. *Apunts Med. Esport* 2010; 45(167): 191–200.
45. Makarov L.M., Fedina N.N., Komolyatova V.N., Besportochnyiy D.A., Kiseleva I.I. Regulatory parameters of blood pressure in young elite athletes during the test at exercise stress. *Pediatrics* 2015; 94(2):102–105 (in Russian).
46. Shirokova A.A., Balykova L.A., Ivanskiy S.A., Varlashina K.N., Soldatov Yu.O., Kazankina V.S., Valiullova A.A.R. Capabilities of daily monitoring of arterial pressure and tests with dosed physical load in diagnostics of arterial hypertension in young athletes. *Practical Medicine* 2019; 17(2):70–79 (in Russian).
47. De Venecia T., Lu M., Figueredo V.M. Hypertension in young adults. *Postgrad. Med.* 2016; 128(2):201–207. doi: 10.1080/00325481.2016.1147927
48. Rowland T.W. (editor). Cardiopulmonary Exercise Testing in Children and Adolescents. Human Kinetics Publishers; 2018. ISBN: 9781492544470
49. Hafe P.V., Freitas J., Costa O. From Cardiac Preparticipation Evaluation to Sudden Cardiac Death. In: Espregueira-Mendes J., Joãovan Dijk C.N., Neyret P., Cohen M., Della Villa S., Pereira H., Oliveira J.M. (editors). Injuries and Health Problems in Football. Springer; 2017:515–523. ISBN: 978-3-662-53924-8. doi: 10.1007/978-3-662-53924-8_45
50. Löllgen H., Leyk D., Hansel J. The pre-participation examination for leisure time physical activity general medical and cardiological issues. *Dtsch Arztebl. Int.* 2010; 107(42):742–749. doi: 10.3238/arztebl.2010.0742
51. Maron B.J., Doere J.J., Haas T.S., Tierney D.M., Mueller F.O. Sudden death in young competitive athletes: analysis of 1866 deaths in the United States, 1980-2006. *Circulation* 2009; 119(8):1085–1092. doi: 10.1161/CIRCULATION-AHA.108.804617
52. Madsen N.L., Drezner J.A., Salerno J.C. Sudden cardiac death screening in adolescent athletes: an evaluation of compliance with national guidelines. *Br. J. Sports Med.* 2013; 47(3):172–177. doi: 10.1136/bjsports-2012-091670
53. Smolensky A.V. Sudden death in sports. *Terapevt* 2017; (11):4–8 (in Russian).
54. Pigolkin Yu.I., Shilova M.A., Zakharov S.N., Sereda A.P., Zholinskiy A.V., Kruglova I.V., Shigeev S.V. The sudden death among the young persons under effect of the different forms of physical loads. *Forensic Medical Expertise* 2019; 62(1):50–55 (in Russian). doi: 10.17116/sudmed20196201150
55. Drezner J.A., Ashley E., Baggish A.L., Börjesson M., Corrado D., Owens D.S., Patel A., Pelliccia A., Vetter V.L., Ackerman M.J., Anderson J., Asplund C.A., Cannon B.C., DiFiori J., Fischbach P., Froelicher V., Harmon K.G., Heidbuchel H., Marek J., Paul S., Prutkin J.M., Salerno J.C., Schmied C.M., Sharma S., Stein R., Wilson M. Abnormal electrocardiographic findings in athletes: recognizing changes suggestive of cardiomyopathy. *Br. J. Sports Med.* 2013; 47(3):137–152. doi:10.1136/bjsports-2012-092069
56. Khodasevich L.S., Chuprova S.N., Abakumov A.A., Hechumyan A.F. Sudden cardiac death in sports: risk factors,

nosological features, prevention strategies. *Sports medicine: research and practice* 2016; 6(3):76–84. doi: 10.17238/ISSN2223-2524.2016.3.76 (in Russian).

57. Abbasov I.M., Skrebov R.V., Kuzmichev D.E., Misnikov P.V. Modern ideas about the causes of sudden death, including in sports and their forensic diagnosis. *Zdravookhranenie Ugry: opyt i innovatsii* 2020; (1):67–81 (in Russian).

58. Bockeria O.L., Ispiryan A.Yu. Sudden cardiac death in athletes. *Annaly aritmologii* 2013; 10(1):31–39. doi:10.15275/annaritmol.2013.1.5 (in Russian).

59. Vorozhko Yu.V., Sedash L.S. Anti-doping policy in sport: light athletics. *Problemy sovershenstvovaniya fizicheskoy kul'tury, sporta i olimpizma* 2018; (1):187–191 (in Russian).

Информация об авторах:

Author information:

Юлия Викторовна Вахненко, канд. мед. наук, ассистент кафедры госпитальной терапии с курсом фармакологии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации; e-mail: gen-45@rambler.ru

Yulia V. Vakhnenko, MD, PhD (Med.), Assistant of Department of Hospital Therapy with Pharmacology Course, Amur State Medical Academy; e-mail: gen-45@rambler.ru

Ирина Евгеньевна Доровских, канд. мед. наук, зав. диагностическим отделением Клиники кардиохирургии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации; e-mail: irina_dorovsk@mail.ru

Irina E. Dorovskikh, MD, PhD (Med.), Head of the Diagnostic Department of the Cardiac Surgery Clinic, Amur State Medical Academy; e-mail: irina_dorovsk@mail.ru

Елена Николаевна Гордиенко, д-р мед. наук., профессор, кафедра гистологии и биологии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации; e-mail: maks_120204@rambler.ru

Elena N. Gordienko, MD, PhD, D.Sc. (Med.), Professor, Department of Histology and Biology, Amur State Medical Academy; e-mail: maks_120204@rambler.ru

Мария Андреевна Черных, заместитель главного врача по лечебной работе Клиники кардиохирургии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации; e-mail: maria.doc@incloud.com

Maria A. Chernykh, MD, Deputy Chief Physician for Medical Work of the Cardiac Surgery Clinic, Amur State Medical Academy; e-mail: maria.doc@incloud.com

Поступила 08.10.2020
Принята к печати 09.11.2020

Received October 08, 2020
Accepted November 09, 2020

УДК 615.9:616.151.5:632.95.001.4]616-07-08

DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-161-177

КОАГУЛОПАТИЯ ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ РОДЕНТИЦИДАМИ – АНТАГОНИСТАМИ ВИТАМИНА К

В.В.Войцеховский¹, А.В.Пивник², Е.А.Филатова³, Т.В.Есенина³,
К.М.Мишкурова³, Н.А.Федорова³

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95

²Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Московский клинический научный центр имени
А.С.Логанова Департамента здравоохранения города Москвы», 111123, г. Москва, Шоссе Энтузиастов, 86

³Государственное автономное учреждение здравоохранения Амурской области «Амурская областная
клиническая больница», 675028, г. Благовещенск, ул. Воронкова, 26

РЕЗЮМЕ. Обзор литературы посвящен отравлениям родентицидами (РДЦ), содержащими непрямыми антикоагулянты – антагонисты витамина К (АВК). В работе охарактеризованы основные группы антикоагулянтов, которые используются в таких препаратах, описан механизм их действия. Авторы провели анализ значительного количества зарубежных и отечественных литературных источников по отравлению РДЦ данной группы. Сделано заключение, что интоксикация АВК встречается гораздо реже, чем другими РДЦ: в основном это случайный прием препаратов, большинство пострадавших – дети. Употребление РДЦ-АВК психиатрическими пациентами и криминальные случаи встречаются нечасто. Анализ литературы показал, что подавляющее число отравлений происходит при употреблении АВК, которые содержатся в готовых приманках для борьбы с грызунами, доступных большинству населения. Интоксикация современными РДЦ-АВК – суперварфаринами возможна при пероральном, дермальном воздействии и попадании на слизистые оболочки глаза, они обладают кумулятивным действием. Основное клиническое проявление отравления суперварфаринами – геморрагический синдром. Клинические признаки коагулопатии бывают гораздо более выражены при преднамеренном отравлении, чем при случайном, поскольку для появления геморрагического синдрома необходим прием большого количества вещества, содержащегося в готовой приманке. Описаны принципы и особенности диагностики, дифференциальной диагностики и лечения коагулопатии данного генеза. У всех пациентов отмечаются изменения в коагулограмме, характерные для витамин К-зависимой коагулопатии: увеличение международного нормированного отношения, протромбинового времени и активированного частичного тромбопластинового времени, снижение уровней II, VII, IX и X факторов свертывания крови, физиологических антикоагулянтов – протеинов С и S. Определить содержание суперварфарина в крови с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии возможно далеко не в каждом лечебном учреждении. При клинической диагностике коагулопатии и выявлении в коагулограмме изменений, характерных для дефицита витамина К, даже если не установлена его этиологическая причина, сразу необходимо назначение адекватной терапии: введение свежезамороженной плазмы и/или концентратов факторов протромбинового комплекса, назначение препаратов витамина К, симптоматическая терапия. С учетом большого периода полужизни суперварфаринов, коагулопатия может персистировать несколько месяцев, в течение которых необходимо продолжать лечение. При своевременной диагностике и назначении адекватной терапии прогноз в большинстве случаев благоприятный. Смертность среди людей при отравлении суперварфаринами не высокая. В качестве иллюстрации авторы приводят два клинических случая из личной практики.

Ключевые слова: суперварфарины, отравление, витамин К-зависимая коагулопатия, диагностика, лечение.

Контактная информация

Валерий Владимирович Войцеховский, д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой госпитальной терапии с курсом фармакологии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Горького, 95. E-mail: voitsehovskij@yandex.ru

Correspondence should be addressed to

Valeriy V. Voytsekhovskiy, MD, PhD, D.Sc. (Med.), Associate Professor, Head of Department of Hospital Therapy with Pharmacology Course, Amur State Medical Academy, 95 Gor'kogo Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation. E-mail: voitsehovskij@yandex.ru

Для цитирования:

Войцеховский В.В., Пивник А.В., Филатова Е.А., Есенина Т.В., Мишкурова К.М., Федорова Н.А. Коагулопатия при интоксикации родентицидами – антагонистами витамина К // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2020. Вып.78. С.161–177. DOI: 10.36604/1998-5029-2020-78-161-177

For citation:

Voytsekhovskiy V.V., Pivnik A.V., Filatova E.A., Esenina T.V., Mishkurova K.M., Fedorova N.A. Coagulopathy at intoxication with rodenticides – antagonists of vitamin K. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2020; (78): 161–177 (in Russian). DOI: 10.36604/1998- 5029-2020-78-161-177

COAGULOPATHY AT INTOXICATION WITH RODENTICIDES – ANTAGONISTS OF VITAMIN K

V.V.Voytsekhovskiy¹, A.V.Pivnik², E.A.Filatova³, T.V.Esenina³, K.M.Mishkurova³, N.A.Fedorova³

¹Amur State Medical Academy, 95 Gor'kogo Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

²The Loginov Moscow Clinical Scientific Center, 86 Enthusiasts' Highway, Moscow, 111123, Russian Federation

³Amur Regional Clinical Hospital, 26 Voronkova Str., Blagoveshchensk, 675028, Russian Federation

SUMMARY. The review is devoted to poisoning with rodenticides containing indirect anticoagulants – vitamin K antagonists (VKA). The work describes the main groups of anticoagulants that are used in such preparations, describes the mechanism of their action. The authors analyzed a significant number of foreign and local literary sources on the poisoning of the rodenticides of this group. It was concluded that VKA intoxication occurs much less frequently than other rodenticides; it is mainly the occasional intake of drugs, most of the victims are children. The use of rodenticides-VKA by psychiatric patients and criminal cases are not common. Analysis of the literature has shown that the overwhelming number of poisonings occurs when using VKA, which are contained in ready-made rodent-control baits available to the majority of the population. Intoxication with modern rodenticides-VKA – superwarfarins is possible with oral, dermal exposure and contact with the mucous membranes of the eye; they have a cumulative effect. The main clinical manifestation of superwarfarin poisoning is hemorrhagic syndrome. The clinical signs of coagulopathy are much more pronounced in case of deliberate poisoning than in case of accidental poisoning, since for the appearance of hemorrhagic syndrome, a large amount of the substance contained in the finished bait is required. The principles and features of diagnosis, differential diagnosis and treatment of coagulopathy of this genesis are described. All patients have changes in the coagulogram, characteristic of vitamin K-dependent coagulopathy: an increase in the international normalized ratio, prothrombin time and activated partial thromboplastin time, a decrease in the levels of II, VII, IX and X blood coagulation factors, physiological anticoagulants – proteins C and S. Determine the concentration of superwarfarin in the blood using high performance liquid chromatography is not possible in every medical institution. In the clinical diagnosis of coagulopathy and the identification in the coagulogram of changes characteristic of vitamin K deficiency, even if its etiological cause has not been established, it is immediately necessary to prescribe adequate therapy: the introduction of fresh frozen plasma and/or concentrates of prothrombin complex factors, prescription of vitamin K preparations, symptomatic therapy. Taking into consideration the long half-life of superwarfarins, coagulopathy can persist for several months, during which treatment should be continued. With timely diagnosis and the appointment of adequate therapy, the prognosis in most cases is favorable. The mortality rate among people with superwarfarin poisoning is not high. As an illustration, the authors cite two clinical cases from personal practice.

Key words: superwarfarins, poisoning, vitamin K-dependent coagulopathy, diagnosis, treatment.

Грызуны, живущие по соседству с человеком, являются переносчиками заболеваний, в том числе и особо опасных инфекций. Дератизация предусматривает комплексные меры по уничтожению грызунов. Химический метод борьбы с грызунами, подразумевающий уничтожение крыс и мышей посредством ядовитых для них препаратов, является наиболее эффективным. Применение родентицидов (РДЦ) (от лат. rodents, род. падеж rodent is – грызущий и caedo – убиваю) – пестицидов из группы зооцидов – распространенный химический способ борьбы с грызунами. С целью дератизации используются разнообразные химические препараты: мышьяк, стрихнин, таллий, карбонат бария, фосфид алюминия и фосфид цинка, непрямые антикоагулянты [1]. Широкое распространение получили РДЦ классов 1,3-индандионов и 4-гидроксикумаринов, обладающие антикоагулянтным механизмом действия и избирательностью в отношении целевых видов животных. РДЦ, содержащие антикоагулянты непрямого действия – антагонисты витамина К (АВК) делятся на две группы. РДЦ-АВК «первого поколения»: варфарин, оксикумарин, куматетралил, дифенацин, этилфенацин, хлорфасинон, изоиндан, которые для уничтожения мышей должны быть

поглещены ими несколько раз в течение нескольких дней. При применении РДЦ первого поколения борьба с мышами и крысами занимает довольно продолжительное время. К РДЦ-АВК «второго поколения» (суперварфарины) относятся бродифакум, бромацилон, флокумафен, дифетиалон и дифенакум, которые могут вызвать летальный исход после единичного применения, что сокращает период борьбы с грызунами.

Активное применение пестицидов данной группы повлекло за собой случаи отравлений ими как человека, так и животных [2, 3]. Отравление человека РДЦ встречается не часто, однако количество подобных отравлений постоянно растет [4–7]. Интоксикация РДЦ-АВК происходит гораздо реже, чем другими химическими препаратами [8–10]. В отечественной литературе мы встретили незначительное количество случаев описания отравлений РДЦ, обладающих антикоагулянтным действием [11–14]. В тоже время в зарубежных источниках имеется достаточное количество наблюдений, посвященных отравлению РДЦ-АВК. Все авторы отмечают, что установить причину коагулопатии в подобных ситуациях сложно, т.к. подвергшиеся отравлению часто не признаются в употреблении препарата, или не связывают ухудшение своего состояния

со случайным воздействием АВК [15–17]. По данным J.D.Chua, W.R.Friedenberg [18] в США в 1988 г. было диагностировано 5133 случая, а в 1995 г. – уже 13423 случая отравлений суперварфарином вследствие случайного приема, попыток самоубийства или психических расстройств. W.A.Watson et al. [19] сообщили о более 16 тысяч случаев отравлений РДЦ в США в 2004 г., из них 15000 случаев у было диагностировано у детей. N.King, M.H.Gran [20] провели анализ отравлений РДЦ, содержащими непрямыми антикоагулянтами в США по данным разных источников за 25 лет; было изучено 315951 случаев отравления РДЦ, содержащими антагонисты витамина К, из них почти 90% пострадавших – дети; были задокументированы не только пероральный, но и ингаляционный, чрескожный, и другие пути проникновения вещества, большинство воздействий являлись непреднамеренными, случайными; только в 2% от всех случаев отмечали тяжелый геморрагический синдром и летальный исход.

W.Gutiérrez et al. [21] изучили 13181 случаев отравления пестицидами в Чили за 2006-2013 гг. В 61% отравления произошли случайно и в 24,8% были попытки суицида. Воздействие ингибиторов ацетилхолинэстеразы имело место в 29,3% случаев, суперварфаринов – в 28,5% и пиретроидов – в 24,0%. Наблюдалось увеличение числа суицидальных попыток с пестицидами среди женщин, по сравнению с мужчинами. Риск отмечен выше среди девочек-подростков.

H.Lee et al. [22] изучили 31 историю болезни (19 мужчин и 12 женщин, средний возраст которых составил 48 лет, диапазон от 2 до 88 лет) из медицинского университета г. Чосон (Южная Корея), у всех было диагностировано отравление суперварфарином: бродифакум (n=21), флюкумафен (n=5), бромидиолон (n=2), куматетралил (n=1), и неизвестного происхождения (n=2). Тринадцать пациентов имели психиатрические заболевания, включая депрессивные расстройства (n=5), деменцию (n=5), когнитивные нарушения (n=1), расстройство регуляции (n=1), другое заболевание (n=1). Одиннадцать пациентов (35,5%) в анамнезе принимали препараты, которые могут усиливать действие антагониста витамина К, в том числе антидепрессанты (n=6), нестероидные противовоспалительные препараты (n=3), дезагреганты (n=3), и антациды (циметидин, ранитидин, n=2). Два пациента злоупотребляли лечением травами. Ни у кого не было диагностировано заболеваний печени. Десять пациентов случайно подверглись действию РДЦ, в то время как 21 больной употребил РДЦ с целью попытки самоубийства. У 11 пациентов отравление РДЦ произошло в состоянии алкогольного опьянения (35,5%). Из 31 пострадавшего только один пациент (3,2%) имел геморрагические симптомы (гематомы и гематурия), тем не менее у 11 из 31 пациентов (35,5%) диагностированы лабораторные нарушения, характерные для отравления АВК [22].

Витамин К принимает участие в карбоксилирова-

нии остатков глутаминовой кислоты в полипептидных цепях некоторых белков, в результате ферментативного процесса происходит превращение остатков глутаминовой кислоты в остатки гамма-карбоксилглутаминовой кислоты (сокращенно Gla-радикалы). Gla-радикалы играют важную роль в биологической активности всех известных Gla-белков, в т.ч. принимающих участие в свертывании крови. К-витаминзависимыми являются протромбин (фактор II), факторы VII, IX, X свертывания крови, физиологические антикоагулянты белок С, белок S и белок Z, синтезирующиеся в печени. В результате приобретенного дефицита витамина К Gla-радикалы формируются не полностью, одним из последствий чего является развитие К-витамин зависимой коагулопатии.

Первым лекарственным препаратом – непрямым антикоагулянтом-АВК был дикумарол (1941 г.), который стал использоваться при заболеваниях, связанных с тромбообразованием и для профилактики тромботических осложнений. Варфарин (от аббревиатуры WARF – англ. Wisconsin Alumni Research Foundation + окончание – arin, указывающее на связь с кумарином) был синтезирован в 1948 г. и зарегистрирован в США как яд для грызунов. В 1951 г. призывник армии США совершил попытку самоубийства, приняв в составе такого яда несколько доз варфарина. В качестве антидота при лечении использовали препарат витамина К (уже известного к тому времени как «витамин коагуляции»), что способствовало полному выздоровлению пациента и в дальнейшем – началу исследований по применению варфарина как антикоагулянта. В 1954 г. варфарин был одобрен для медицинского использования у людей, так как превосходил по эффективности дикумарол и в последующем нашел широкое применение как непрямым антикоагулянт в различных отраслях медицины.

По химической структуре выделяют следующие антикоагулянты непрямого действия [23]: 1) производные монокумарина (варфарин, аценокумарол); 2) кумарина (этил бискумацетат); 3) индандиона (фениндион).

При приеме варфарина плазменные уровни факторов II, VII, IX и X, формируемых печенью, начинают падать, свидетельствуя, что варфарин подавляет синтез этих соединений печенью, блокируется также синтез двух физиологических антикоагулянтов – белков С и S. Варфарин вызывает этот эффект, конкурируя с витамином К за реактивные участки в ферментативных процессах при формировании протромбина и других трех факторов свертывания, блокируя действие витамина К. При начале приема варфарина процесс свертывания блокируется не сразу, сначала должен произойти естественный расход уже присутствующих в плазме факторов свертывания, на которые он действует. Максимальное действие препарата проявляется на 3-5 день от начала применения и прекращается через 3-5 дней после отмены. Депрессия синтеза факторов при К-гиповитаминозе возникает последова-

тельно в зависимости от продолжительности их жизни в циркуляции: в первую очередь происходит снижение активности фактора VII (период полужизни 4 часа), затем уменьшается активность факторов IX и X, в последнюю очередь снижается активность протромбина (через 3-4 дня). В том же порядке происходит и восстановление уровня прокоагулянтов после устранения дефицита витамина К [23, 24].

Родентициды, содержащие антагонисты витамина К

Непрямые антикоагулянты-АВК представляют собой большую группу современных РДЦ хронического действия, они в большинстве случаев не растворимы в воде, но растворимы в органических растворителях. РДЦ-АВК обладают значительными кумулятивными свойствами и способны сохранять свой антикоагулянтный эффект в течение нескольких лет. РДЦ-АВК могут в течение длительного времени в незначительных объемах накапливаться в теле зверьков до смертельных доз. Ингибирование витамина К, участвующего в процессе синтеза факторов свертывания, лежит в основе действия большинства таких препаратов. Время начала развития клинических симптомов коагулопатии варьирует от 3 до 5 дней с момента попадания АВК в организм грызуна, что объясняется наличием в организме собственных запасов витамина К. Постепенное прекращение синтеза собственного витамина К приводит к развитию тяжелого геморрагического синдрома, способствующего гибели грызунов.

Концентрации действующего вещества в приманках весьма незначительные и у животных не возникает на них оборонительной реакции. Использование таких ядов позволяет раскладывать крупные порции приманок для уничтожения всех обитающих зверьков, создавать «точки долговременного отравления» [25].

Область и условия применения средств дезинсекции и дератизации определяются степенью их опасности (ГОСТ 12.1.007-76) и устанавливаются согласно Методическим указаниям «Оценка токсичности и опасности дезинфицирующих средств» (МУ 1.2.1105-02) [25–27], где безопасности работы с химическими средствами дезинсекции и дератизации, устранению их вредного воздействия на окружающую среду и здоровье людей придается важное значение.

Антикоагулянты первого поколения (варфариновые РДЦ) действуют медленно (гибель грызунов затягивается до месяца) и требуют серии повторных обработок (от 3 до 6 раз), при этом сроки дератизации замедляются до 15-20 дней, иногда до месяца.

Антикоагулянты второго поколения – суперварфарины (бродифакум, бромадиолон, флюкумафен, дифетиалон и дифенакум) действуют быстрее: гибель зверьков наступает через 4-10 дней при однократном поедании приманки. Действующие вещества этих РДЦ относятся к 1 классу опасности [25]. Суперварфарины накапливаются в печени и почках после их употребле-

ния зверьком, в отличие от варфарина, который легко выделяется из организма. Поэтому антикоагулянты второго поколения были предложены для борьбы с грызунами, устойчивыми к действию варфарина.

РДЦ-АВК выпускаются в виде концентратов (порошки, пасты, гели и растворы), а также готовых приманок с нейтральными наполнителями. Их окрашивают в различные цвета с целью распознавания. В концентраты и приманки с антикоагулянтами второго поколения добавляется горечь (битрекс) для исключения случайного отравления людей и домашних животных. Расход приманочных продуктов при использовании антикоагулянтов значительно превосходит расход РДЦ с ядами острого действия.

Отравление суперварфаринами

Интоксикация при нарушении правил работы с родентицидами

На разных этапах приготовления и применения РДЦ-АВК возможен контакт работающих и населения с действующими веществами и готовыми препаративными формами на их основе. Особого внимания заслуживает изучение токсиколого-гигиенических свойств концентратов РДЦ, используемых для приготовления приманок, как более опасной для человека формы выпуска [28].

РДЦ препараты второго поколения на основе АВК (концентраты), согласно гигиенической классификации пестицидов по степени опасности, при однократном пероральном воздействии относятся ко 2 классу опасности (опасные соединения), при дермальном – к 3-4 классу, оказывают слабо выраженное раздражающее действие на слизистые оболочки глаза, не обладают раздражающим действием на кожу, не оказывают сенсibilизирующего действия [28]. Относятся к 1 классу опасности (чрезвычайно опасные соединения) с учетом сильно выраженного кумулятивного действия и кожно-резорбтивной токсичности концентрата [28]. Готовые приманки постоянного состава на основе бромадиолона и бродифакума при однократном пероральном и дермальном воздействии относятся к 4 классу опасности (малоопасные соединения), оказывают слабо выраженное раздражающее действие на слизистые оболочки глаза, не обладают раздражающим действием на кожу, не оказывают сенсibilизирующего действия [28]. С учетом сильно выраженного кумулятивного действия относятся ко 2 классу опасности (опасные соединения) [28].

В литературе встречаются разные данные о дозе препарата, необходимой для развития коагулопатии. Так, одни авторы сообщают о том, что вызвать отравление АВК с развитием длительной коагулопатии может даже одна доза, 1 мг суперварфарина [1, 29]. Другие называют гораздо более высокие дозы [30]. Вероятно, это связано с тем, произошло отравление концентратом или готовой приманкой. Суперварфарины в 100 раз сильнее по сравнению с варфарином, поэтому

в таких ситуациях увеличение активности приводит к развитию длительной коагулопатии продолжительностью от нескольких недель до нескольких месяцев [31]. Высокая токсичность суперварфаринов обусловлена их хорошей жирорастворимостью и способностью селективного накопления в гепатоцитах, кроме того, они блокируют ферменты печени при гораздо более низких сывороточных концентрациях, в связи с чем имеют больший период полусуществования в сыворотке крови (156 ч), чем варфарин (37 ч) [30].

С концентратами имеют контакт рабочие, изготавливающие приманки, и при нарушении правил работы отравление может произойти вследствие попадания в организм даже незначительного количества вещества. С готовыми приманками работают лица, производящие дератизацию, и отравление может произойти только при длительном воздействии препарата (с учетом его кумулятивного действия и периода полужизни в окружающей среде – 157 дней). Отравление может произойти не только при пероральном, но и при длительном чрескожном воздействии и вдыхании [30].

При нарушении рекомендуемых норм работы с РДЦ и мер предосторожности при их использовании возможно развитие отравления. В большинстве описанных в литературе случаев пациенты находились в контакте с РДЦ, применяемыми в домашних условиях, работая на заводах по производству РДЦ или контактируя непосредственно с РДЦ, содержащимися в других средствах [11, 32–35].

Криминальные случаи развития К-зависимых коагулопатий

В литературе встречаются работы, посвященные криминальным случаям развития К-зависимых коагулопатий, когда с целью убийства или самоубийства применяют АВК, как лекарственные формы, так и содержащие их РДЦ [13, 36–39].

W.Schneider et al. [36], W.McCurdy [37] еще в 70-80-х годах прошлого столетия описали криминальное использование оральных АВК в быту.

M.Curcic, J.Dadasovic [40] провели анализ случаев и попыток самоубийства с использованием РДЦ в Югославии с 1968 по 2000 гг. Общее число попыток – 88, то есть случаи самоубийства с использованием РДЦ встречаются не часто. В большинстве случаев использовали фосфид цинка, но встречались и отравления РДЦ-АВК. В структуре пытавшихся совершить самоубийство авторы отмечали учеников начальной школы, злоупотребляющих алкоголем лиц, пациентов с депрессией, неврозами и другими психическими заболеваниями. Женщины пытались покончить жизнь самоубийством с применением РДЦ чаще. Авторы указали на отличие терапии отравления фосфидом цинка от отравления РДЦ-АВК: при отравлении фосфидом цинка требуется промывания желудка раствором бикарбоната натрия, применение активированного угля,

диуретиков и т.д., тогда как при отравлении АВК к этой терапии необходимо добавить лечение К-зависимой коагулопатии.

И.В.Колосова и соавт. [13] привели в своей работе два описания криминального отравления РДЦ-АВК, связанные со служебной деятельностью. Авторы отметили, что поскольку период полужизни варфарина составляет 17 часов, назначение препаратов витамина К, и/или трансфузии свежезамороженной плазмы хорошо позволяют корригировать показатель международного нормализованного отношения (МНО), но при коагулопатии, вызванной суперварфаринами, имеющими период полужизни до 69 суток, после прекращения терапии витамином К МНО снова удлиняется, что было отмечено у двух этих пациентов [13]. Отмечены значительные трудности при диагностике К-зависимой коагулопатии криминального характера и преимущество в ее терапии концентратами протромбинового комплекса по сравнению с трансфузиями свежезамороженной плазмы [13]. При диагностике коагулопатии, индуцированной суперварфаринами, во всех случаях необходимо исключать их умышленный прием [41].

Синтетические каннабиноиды становятся все более «популярными» наркотиками для злоупотребления из-за низкой стоимости и невозможности обнаружить эти вещества при обычном исследовании. В США описана частота загрязнения синтетических каннабиноидов антикоагулянтными РДЦ длительного действия, приводящими к коагулопатии и геморрагическим осложнениям. M.N.Bahouth et al. [42] провели исследование пациентов с подозрением на воздействие загрязненных суперварфаринами синтетических каннабиноидов и связанных с ними кровотечений. Гематурия была наиболее распространенным проявлением геморрагического синдрома. У большей части данной когорты (75%) МНО было более 9,6. Из 13 из протестированных на бродифакум пациентов у 12 (92%) результаты были положительными. Авторы сделали заключение, что у пациентов с необъяснимой коагулопатией при оказании неотложной помощи важно заподозрить интоксикацию суперварфаринами и рассмотреть возможность тестирования на бродифакум.

J.M.Devgun et al. [43] описали опыт Иллинойского регионального токсикологического центра по борьбе со вспышкой отравления АВК-РДЦ длительного действия, связанного с использованием синтетического каннабиноида, 178 пациентов. Большинство пострадавших были мужчинами (73%) молодого и среднего возраста (25–40 лет). У 88% лиц при проведении тестирования на антикоагулянт определялся бродифакум, реже дифенакум и бромадиолон. 63% пациентов отмечали боли в спине, боку или в животе, у 70% диагностирована гематурия. Кровоизлияние в мозг стало причиной 4 из 5 смертельных случаев. Сто шесть больных получали внутривенно витамин К1. 38 пациентов повторно были госпитализированы после выписки из стационара в связи с рецидивированием геморрагиче-

ского синдрома.

По данным D.L. Feinstein et al. [44] исследование образцов крови таких пациентов с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией показал следующие результаты: бродифакум был обнаружен в 31 образце: в 30 – дифенакум, в 18 – бромадиолон. Коагулопатия нормализовалась быстрее у пациентов, получавших внутривенно витамин К1, по сравнению с пероральным витамином К1. Больные, которым назначали препараты витамина К1 при выписке для дальнейшего амбулаторного применения, имели меньшее количество повторных госпитализаций. Авторы сделали выводы о том, что у лиц, перенесших отравление, уровни суперварфаринов в плазме при выписке были повышены, несмотря на нормальные показатели коагулограммы, и о том, что путь введения витамина К1 влиял на фармакокинетику антикоагулянтов длительного действия [44]. Все авторы, описавшие подобное отравление, указали на то, что суперварфариновые добавки синтетических каннабиноидов могут привести к клинически значимой коагулопатии.

Прием суперварфаринов больными с психическими заболеваниями

Описаны случаи отравления суперварфаринами психиатрическими больными с целью суицида [45, 46].

Синдром Мюнхгаузена (Munchausen syndrome) – симулятивное расстройство, при котором человек симулирует, преувеличивает или искусственно вызывает у себя симптомы болезни, чтобы подвергнуться медицинскому обследованию, лечению, госпитализации, хирургическому вмешательству и т.п. [47]. Название происходит от имени барона фон Мюнхгаузена, который стал известен благодаря фантастическим рассказам о своих приключениях [47]. Пациенты с синдромом Мюнхгаузена в подавляющем большинстве случаев отрицают искусственную природу своих симптомов, даже если им предъявляют доказательства симуляции. Чаще всего такие больные симулируют следующие симптомы: конвульсии, кровотечения вызванные приёмом антикоагулянтов, рвоту и диарею [47]. В большинстве случаев больные с синдромом Мюнхгаузена с целью имитации геморрагий наносят себе разнообразные физические воздействия [48]. Но описаны случаи приема такими пациентами как оральных АВК, так и крысиных ядов, содержащих АВК [49–51], с целью симуляции геморрагического синдрома.

Под *делегированным синдромом Мюнхгаузена (Munchausen Syndrome by Proxy)* понимают такой вид симулятивного расстройства, при котором родители или лица, замещающие их, намеренно вызывают у ребёнка или уязвимого взрослого человека болезненные состояния или выдумывают их, чтобы обратиться за медицинской помощью [47]. Такие действия совершают чаще женщины, в большинстве случаев – родные матери или супруги [47]. Родители, симулирующие бо-

лезни ребёнка, сами могут проявлять поведение типичное для синдрома Мюнхгаузена [47]. Воображаемая или искусственно вызываемая болезнь может принимать практически любую форму, но наиболее распространенными проявлениями являются кровотечения, припадки, диарея, рвота, отравления, инфекции, удушье, лихорадка, аллергии и синдром внезапной детской смерти [52]. Описаны случаи К-зависимых коагулопатий у детей, индуцированные их психически нездоровыми родственниками [53].

Поскольку собрать анамнез у пациентов с синдромом Мюнхгаузена практически не удастся, лечение по всем правилам необходимо осуществлять незамедлительно при диагностике К-зависимой коагулопатии, не дожидаясь результатов определения РДЦ в крови [54].

Клиника и диагностика отравления суперварфаринами

Признаками отравления РДЦ-АВК являются геморрагический синдром (геморрагии на коже, носовые кровотечения, стул с примесью крови или «мелена», гематурия, кровохарканье), слабость, бледность, одышка, анорексия, рвота, синкопе, боль в животе. Гематурия является одним из самых частых клинических проявлений отравления суперварфаринами [55]. К.М. Ware et al. [56] провели экспериментальную работу на крысах, по результатам которой сделали заключение, что гемоглобинурия (связанная с окислительным стрессом) и гематурия (обусловленная воздействием антикоагулянтов) могут являться новыми биомаркерами отравления бродифакумом и быть использованы в клинической практике для выявления пострадавших [56]. Описаны коагулопатии различной степени тяжести, от отсутствия клинических проявлений при наличии изменений в коагулограмме и незначительной кровоточивости, до тяжелых кровотечений, в том числе полостных и внутриорганных, симулирующих опухоли и различные объемные процессы [57].

Опубликованы случаи сочетания геморрагической коагулопатии и «парадоксального» тромбоза (обусловленного тем, что уменьшение уровня физиологического антикоагулянта – протеина С происходит быстрее, чем факторов свёртывания крови) у пациентов при отравлении суперварфаринами [57, 58].

Диагностика индуцированной суперварфаринами коагулопатии является очень сложной проблемой. Непосредственных указаний на контакт с РДЦ часто не бывает, и первые клинические проявления отравления могут быть неспецифичными [11, 59]. При поступлении больного с коагулопатией неясной этиологии проводится дифференциальная диагностика с другими К-зависимыми коагулопатиями: передозировкой варфарина; целиакией, сопровождающейся мальабсорбцией с дефицитом витамина К; воздействием патологических ингибиторов коагуляции; снижением всасывания витамина К из-за нарушения поступления

желчи в кишечник при развитии механической желтухи с ахолией; неонатальных формах, связанных с недоношенностью новорожденных и недостаточным синтезом в кишечнике витамина К; коагулопатиями при заболеваниях печени и т.д. [48, 60]. Часто дифференциальный диагноз приходится проводить с ДВС-синдромом. Доказать наличие суперварфарина можно с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии [61, 62]. К сожалению, определение в крови суперварфарина возможно не в каждом даже крупном медицинском центре, поэтому авторы отмечают необходимость эмпирического введения высоких доз витамина К при подозрении на отравление РДЦ-АВК [63].

Чаще от воздействия суперварфарина страдают дети до 19 лет [58]. У взрослых отравления подразделяют на преднамеренные при попытках самоубийства, или как представление имитируемого расстройства, случайные и неизвестные [64]. В большинстве случаев имеет место незначительная коагулопатия, часто без клинических проявлений, в результате воздействия яда, устраненная без остаточных явлений. На втором месте по частоте встречается умеренная коагулопатия с более выраженными клиническими проявлениями, потребовавшая лечения, но без наступления инвалидности. Тяжелая коагулопатия с выраженным геморрагическим синдромом развивается не часто и очень редко при отравлении РДЦ-АВК наступает смертельный исход [4–6]. Исследователями установлено, что за восьмилетний период из 79025 случаев отравления РДЦ-АВК второго поколения зарегистрировано только 8 (0,08%) летальных исходов [61]. В другой, меньшей серии наблюдений умерло 6 (25%) из 24 пациентов, отравившихся бродифакумом [65]. Это в первую очередь связано с тем, что бытовое отравление происходит готовыми приманками, а не концентратами.

Клинические проявления коагулопатии и их последствия гораздо более выражены при преднамеренном отравлении, чем при случайном. Случайное отравление чаще наблюдается у детей. Согласно анализу отравлений суперварфаринами, у большинства детей и взрослых при случайном отравлении симптомов не возникает и лечения не требуется. Установлено, что прием одной упаковки приманки (25 г), содержащей 0,005% бродифакума, приведет к нарушению коагуляции у ребенка с массой тела 10 кг. В действительности дети съедают по ошибке совсем немного препарата. Преднамеренное отравление суперварфаринами связано с большим риском развития осложнений, поскольку самоубийцы обычно принимают высокую дозу препарата. [30].

M. Ingels et al. [66] проанализировали 595 наблюдений приема внутрь суперварфаринами детьми в возрасте менее лет. Динамическое наблюдение выполнено у 463 детей. Авторы пришли к выводу, что прием детьми суперварфарина в количестве менее одной упаковки готовой приманки не требует очищения

желудочно-кишечного тракта или профилактического назначения витамина К.

H. Lee et al. [22] на основании анализа 38 случаев отравлений пациентов всех возрастов суперварфаринами, содержащимися в готовых приманках, сделали выводы о том, что большинство таких отравлений не вызывает серьезных клинических осложнений, тяжелые геморрагические осложнения могут быть связаны с уровнем сывороточного альбумина и приемом РДЦ одновременно с алкоголем.

Диагностика основывается на анамнезе, описанных выше клинических симптомах, анализе крови (анемия, гипопропротеинемия, повышение щелочной фосфатазы, возможно умеренное повышение печеночных ферментов). Важное значение в диагностике отравления АВК имеет коагулограмма, где имеют место увеличение МНО, протромбинового времени и активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), снижение уровней II, VII, IX и X факторов свертывания крови, протеинов С и S.

С целью дифференциального диагноза с коагулопатией, случившейся на фоне патологии печени, при которой так же имеет место депрессия К-зависимых факторов, учитывают уровень фактора V, не зависящего от витамина К [48].

Терапия отравления суперварфаринами

1. Немедленное прекращение контакта с антикоагулянтом. Пострадавшего следует немедленно отстранить от контакта со средством, освободить от загрязнённой одежды, создать покой и тепло.

2. При попадании в желудок суперварфарина в количестве менее одной упаковки готовой приманки (менее 25 г) можно не промывать желудок [30]. Ранее рекомендовали назначать рвотное средство – сироп ипекакуаны, при условии, что с момента отравления прошло не более 1 часа. Сейчас от этого отказались [30].

3. При попадании в желудок любого количества концентрата или готовой приманки в количестве более 25 г, если с момента отравления прошло несколько часов, пострадавшему следует немедленно выпить несколько стаканов воды или раствора марганцево-кислого калия (1:5000, 1:10000), затем вызвать рвоту, дать активированный уголь и солевое слабительное (20-25 г сульфата натрия в стакане воды). Однако в тех случаях, когда преднамеренное отравление произошло несколько дней назад, проводить промывание желудка уже не имеет смысла.

4. При попадании средства на кожу следует промыть ее тёплой водой с мылом. При попадании средства в глаза необходимо обильно промыть их водой или 2% раствором пищевой соды, после чего закапать 1-2 капли 30% раствора сульфацила натрия (альбуцида).

5. При подозрении на преднамеренное или криминальное отравление – госпитализация в отделение реанимации без одежды не менее чем на 24 часа с

запретом получения передач от родственников.

6. При отравлении суперварфаринами необходимо назначение препаратов витамина К. Лучше использовать препараты витамина К1 (фитоменадион), а не К3 (менадион, викасол). Если у больного нет активного кровотечения и нет необходимости срочной коррекции МНО, методом выбора является пероральное назначение витамина К1 в дозе 1-2 мг, при большом МНО пероральная доза может быть увеличена до 5 мг. Для лечения массивного, угрожающего жизни кровотечения витамин К1 следует вводить в дозе 10-20 мг медленно, не менее 30 минут; после внутривенного введения эффект наступает через 2-4 часа, максимальный эффект независимо от пути введения наступает через 24 часа [67]. Некоторые авторы [1, 68] указывают, что суточная доза витамина К1 для взрослых при тяжелом отравлении должна составлять 100-200 мг, иногда в течение нескольких дней и недель, дозу можно вводить порциями через каждые 6-8 часов.

7. Начало синтеза факторов свертываемости после введения препаратов витамина К варьирует от 6 до 12 часов, нормализация их содержания наступает через 3-5 дней, поэтому о трансфузии свежзамороженной плазмы или введения концентратов протромбинового комплекса, как источника факторов свертывания, забывать не стоит. Для коррекции гемостаза использовать трехфакторные концентраты протромбинового комплекса (Prothrombinex HT, Bebulin, Preconativ) возможно только у больных с МНО ниже 4, у больных с большим МНО рекомендуется отдавать предпочтение четырехфакторным концентратам протромбинового комплекса (Prothromplex® 600, Beriplex®, Kaskadil®, Octaplex®, Cofact®) [12, 69].

8. Ряд авторов указывает, что в тяжелых случаях коагулопатии следует вводить препарат рекомбинантного фактора VIIa [12, 33].

9. При выраженном анемическом синдроме следует использовать переливание эритроцитсодержащих средств.

10. РДЦ на основе антикоагулянтных препаратов действуют не сразу, поэтому исходное состояние системы коагуляции при первичном осмотре не дает информации о том, требуется лечение или нет [39]. Для недопущения развития тяжелых геморрагических осложнений при интоксикации суперварфаринами даже в отсутствие симптомов отравления или при их слабой выраженности протромбиновый индекс/протромбиновое время/МНО надо измерять через 24, 48 и 72 часа [68].

11. После купирования геморрагического синдрома показатели коагулограммы следует проверять до их полной нормализации. Иногда на это уходят недели или месяцы.

12. Продолжительность поддерживающей терапии препаратом витамина К составляет для варфарина 15 дней, для РДЦ 2 поколения или неизвестного вида – в среднем 1 месяц. Принятие решения о прекращении

терапии должно быть комплексным и основываться на пробной отмене препарата по истечении 2-4 недель и учете контрольных анализов свертывающей системы крови через 36-48 и 96 часов после отмены [1]. Поскольку период полужизни суперварфаринов большой, коагулопатия персистирует месяцами, и заместительная терапия должна продолжаться длительно, иногда до 6 месяцев [13, 34].

В качестве примера приводим два случая из личной практики.

Пример 1. Больной К., 45 лет, госпитализирован в Амурскую областную клиническую больницу (АОКБ) 04.10.2011 г. в связи с появлением массивных подкожных и внутрикожных гематом, кровоточивости десен, носовых кровотечений. Из анамнеза известно, что впервые появление гематом на коже, носовых и десневых кровотечений отметил в июне 2011 г. Тогда был госпитализирован в терапевтическое отделение городской больницы, где при выполнении коагулограммы установлено увеличение АЧТВ до 62,5 сек (при норме до 35 сек), удлинение протромбинового времени – 45,5 сек и МНО – 6. Причину коагулопатии выяснить не удалось. Был выставлен диагноз «ДВС-синдром неясной этиологии». Лечение свежзамороженной плазмы быстро привело к купированию геморрагического синдрома, а впоследствии и к нормализации показателей коагулограммы. Через две недели был выписан без геморрагического синдрома. В конце сентября 2011 г. вновь отметил появление носового кровотечения. В первых числах октября поступил в гематологическое отделение АОКБ по причине нарастающих множественных гематом на конечностях и туловище. При тщательном расспросе категорически отрицал прием каких-либо лекарственных препаратов, влияющих на свертывающую систему крови. При обследовании печени, желчного пузыря, желудочно-кишечного тракта и почек патологии не было обнаружено. В клиническом анализе крови: анемия легкой степени (гемоглобин 10^3 г/л), ускорение СОЭ (35 мм/ч). По данным миелограммы гемобластоз был исключен. Заключение по коагулограмме: резкое замедление I-II фаз внешнего пути свертывания; дефицит факторов протромбинового комплекса – удлинение эхитоксового времени (II фактор), лебетоксового времени (X фактор) и протромбинового времени (VII фактор), снижено количество IX фактора; процентное содержание V, VIII, XI факторов не изменено; образование протромбиназы по внутреннему пути свертывания не нарушено; конечный этап свертывания в норме; умеренная гиперфибриногенемия; активность антитромбина-III и плазминогена удовлетворительная; низкий уровень протеина С; имеет место дефицит витамин К-зависимых факторов свертывания и ингибитора свертывания – протеина С. При конкретной постановке вопроса о применении крысиного яда пациент дал утвердительный ответ. Было установлено, что с марта по июнь и с июля по сентябрь 2011 г. самостоя-

тельно, с целью борьбы с крысами у себя на складе (пациент – частный предприниматель, торговец овощами и фруктами), не соблюдая меры предосторожности, раскладывал в большом количестве крысиный яд, действующим веществом которого являлся бродифакум; работал в закрытом помещении продуктового склада и самостоятельно раскладывал приманку для травли крыс руками, не защищенными резиновыми перчатками, а также употреблял в пищу фрукты и овощи, хранившиеся на этом складе. С учетом собранного анамнеза и данных коагулограммы, коагулопатия была расценена как обусловленная дефицитом К-зависимых факторов свертывания вследствие отравления бродифакумом. С началом лечения свежезамороженной плазмой, 1% раствором викасола 1 мл 3 раза в день внутривенно, геморрагический синдром купирован в течение 3 суток. В течение месяца геморрагический синдром полностью разрешился (на фоне таблетированного приёма викасола), показатели коагулограммы нормализовались к началу второго месяца. При контрольных исследованиях коагулограммы патологии нет.

Пример 2. Больная П., 48 лет, впервые поступила в гематологическое отделение АОКБ в январе 2019 г. При поступлении имеется выраженная кровотоочивость десен, появление кровоизлияний различных размеров на коже, макрогематурия. Вышеперечисленные клинические проявления впервые отметила в декабре 2018 г. Лечилась в ЦРБ по месту жительства, где проводилась гемостатическая и антибактериальная терапия. Однако в связи с отрицательной динамикой – усилением геморрагического синдрома и появлением макрогематурии была переведена в гематологическое отделение АОКБ.

Из анамнеза выяснили, что живет в собственном деревянном доме, имеет приусадебное хозяйство и страдает от большого количества грызунов (мыши, крысы). В 2018 г. в течение полугода самостоятельно проводила дератизацию, название используемых препаратов указать не смогла, но при демонстрации опознала приманки, содержащие бродифакум и бромадиолон. Пациентка неопрятная, самостоятельно раскладывала приманку для травли крыс руками, незащищенными резиновыми перчатками, не обрабатывала руки после этого должным образом, тут же курила и принимала пищу.

Перенесенные заболевания: ОРВИ, однократно пневмония, страдает ХОБЛ. Аллергологический анамнез не отягощен. Курит в течение 30 лет.

Данные объективного осмотра при первичном поступлении в гематологическое отделение АОКБ. Состояние средней степени тяжести. Повышенного питания, рост 160 см, вес 109 кг. Сознание ясное. Положение активное. Кожный покров и видимые слизистые обычной окраски и влажности. Выраженный геморрагический синдром на коже: в местах инъекций обширные кровоподтеки, кровоизлияния различных

сроков давности на коже верхних и нижних конечностей, живота до 10-12 см в диаметре. Зев без особенностей, миндалины не увеличены. Периферические лимфоузлы не увеличены. Костно-суставная система без видимой деформации, движения не ограничены.

Тоны сердца ясные, ритмичные, шумов нет. ЧСС 68 в 1 мин, АД 120 и 70 мм рт. ст. Перкуторно над лёгкими определялся лёгочный звук, дыхание по всем полям везикулярное, хрипы не выслушивались. Живот: мягкий, при пальпации безболезненный. Печень по краю рёберной дуги. Селезенка пальпаторно не определялась. Симптом поколачивания отрицательный с обеих сторон, мочеиспускание свободное, безболезненное. Стул обычной окраски, оформленной консистенции. Отеков на нижних конечностях нет.

Клинический анализ крови при поступлении: эритроциты – $3,03 \times 10^{12}/л$, гемоглобин – 98 г/л, лейкоциты – $6,2 \times 10^9/л$, тромбоциты – $181 \times 10^9/л$, сегментоядерные – 75%, моноциты – 5%, лимфоциты – 20%, СОЭ – 35 мм/час.

Биохимический анализ крови от 22.02.19 г: общий белок – 75,3 г/л, мочевины – 4,0 ммоль/л, билирубин – 10,4-3,9-6,5 мкмоль/л, АЛТ – 14,9 ЕД/л, АСТ – 13,5 ЕД/л, креатинин – 62 мкмоль/л, ЛДГ – 256 е/л.

Коагулограмма: протромбиновое время – 172 сек, МНО – 10, ПТИ – 9,5%, фибриноген – 3,3 г/л, АЧТВ – 69,1 сек, РФМК – 6,5, тромб. время 10 – сек, анти-тромбин – 86%, протеин С – 0,82%, плазминоген – 110%, фактор IX – 3,4%, содержание факторов V, VIII, XI в пределах нормы. Агрегация тромбоцитов со всеми индукторами не нарушена. Отмечено удлинение эхитоксового и лебетоксового времени.

Общий анализ мочи – эритроциты сплошь.

Исследования на гепатиты методами ИФА и ПЦР – отрицательный результат.

ЭКГ: синусовый ритм, ЧСС 88 в мин., ускорение АВ-проводимости, гипертрофия миокарда ЛЖ, обменные изменения в миокарде. КТ органов грудной и брюшной полостей – без патологии.

Данных, свидетельствующих о наличии заболевания печени, желчного пузыря, кишечника, почек, амилоидоза, аутоиммунного заболевания выявлено не было. По результатам стерильной пункции, выполненной двукратно, гемобластоз был исключен.

С учетом анамнеза (работа с РДЦ, содержащими бродифакум и бромадиолон, без соблюдения техники безопасности), наличия выраженного геморрагического синдрома, данных коагулограммы: дефицит факторов протромбинового комплекса – удлинение эхитоксового времени (II фактор), лебетоксового времени (X фактор) и протромбинового времени (VII фактор), снижения количественного содержания IX фактора; при нормальном содержании V, VIII, XI факторов, удовлетворительной активности анти-тромбина-III и плазминогена, низком уровне протеина С, высказано предположение о дефиците витамин К-зависимых факторов свертывания и ингибитора коагуля-

ции – протейна С.

Выставлен клинический диагноз: Витамин К-зависимая коагулопатия, вероятнее всего на фоне отравления РДЦ. Проводилась гемостатическая терапия препаратами протромплекс, свежезамороженной плазмой, викасолом (сначала для внутривенного введения, затем внутрь), симптоматическая терапия. Геморрагический синдром был купирован. Гипокоагуляция по коагулограмме сохранялась, но гораздо менее выраженная. В феврале 2019 г. выписана под наблюдение участкового терапевта с рекомендациями – прием викасола по 2 таб. (50 мг) 3 раза в день, контроль коагулограммы в динамике.

После выписки через 1 день на фоне приема викасола вновь отметила появление геморрагического синдрома на коже, кровоточивость десен, через одну неделю началось маточное кровотечение. Вновь была госпитализирована в гематологическое отделение АОКБ. Вводились протромплекс, трансфузии свежезамороженной плазмы (СЗП) и эритроцитарной массы в связи с развитием острой анемии. В коагулограмме – выраженная гипокоагуляция (ПТИ – 13,2%, МНО – 11, АЧТВ – 62,9 сек, протромбиновое время – 104 сек, протейн С – 0,63%. Удлинено эхитоксовое и либетоксовое время). При разрешении геморрагического синдрома и улучшении показателей коагулограммы была выписана под наблюдение участкового терапевта с рекомендациями продолжать прием препаратов витамина К.

В дальнейшем на протяжении 5 месяцев постоянно госпитализировалась в терапевтическое отделение ЦРБ или гематологическое отделение АОКБ в связи с рецидивом геморрагического синдрома. Интервалы между госпитализациями составляли не более одной недели. В основном геморрагический синдром проявлялся появлением кровоизлияний на коже и кровоточивостью десен. Тяжелых полостных кровотечений больше не отмечалось. При разрешении геморрагического синдрома гипокоагуляция в коагулограмме сохранялась, что объясняли длительным кумулятивным эффектом суперварфаринов. Лечение проводилось трансфузиями СЗП, на фоне чего геморрагический синдром разрешался, но после прекращения трансфузий СЗП вновь рецидивировал. Постоянно принимала викасол в различных дозировках.

В июле 2020 г. отмечена нормализация всех показателей коагулограммы, после чего перестал рецидивировать геморрагический синдром и исчезла необходимость в трансфузиях СЗП. Находится под наблюдением у гематолога в областной поликлинике и терапевта ЦРБ. Состояние и самочувствие удовлетворительное, геморрагический синдром не рецидивирует, показатели клинического анализа крови и коагулограммы в норме. Длительное рецидивирование геморрагического синдрома в данном случае мы объяснили большим периодом полужизни суперварфаринов, в связи с чем коагулопатия может

персистировать до 6 месяцев [40]. В течение 6 месяцев нам и пришлось продолжать терапию, после чего коагулопатия была купирована.

Заключение

Таким образом, интоксикация РДЦ-АВК встречается гораздо реже, чем другими химическими препаратами: в основном это случайный прием, попытки самоубийства, употребление психиатрическими пациентами. Среди пострадавших значительно преобладают дети. Подавляющее число отравлений происходит при употреблении АВК, содержащихся в готовых приманках, доступных к применению большинству населения, гораздо реже интоксикация отмечается при нарушении правил работы с концентратами. Интоксикация суперварфаринами, применяемыми в настоящее время в качестве РДЦ, возможна при пероральном, дермальном воздействии и попадании на слизистые оболочки глаза. Суперварфарины обладают кумулятивным эффектом. Признаками отравления РДЦ-АВК являются геморрагический синдром, слабость, бледность, одышка, анорексия, рвота, синкопе, боль в животе. Клинические проявления коагулопатии гораздо более выражены при преднамеренном отравлении, чем при случайном. Это объясняется значительным количеством вещества, которое необходимо употребить в готовой приманке, чтоб появился геморрагический синдром. В то же время у всех отмечаются изменения в коагулограмме. Концентраты АВК гораздо опаснее, отравление может произойти вследствие попадания в организм даже незначительного количества вещества. Диагностика у пациента суперварфарин-индуцированной коагулопатии является сложной задачей, не всегда есть указания на контакт с отравляющим веществом, начальные клинические проявления могут быть неспецифическими и определить содержание суперварфарина в крови с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии возможно далеко не в каждом лечебном учреждении. Большое значение в диагностике отравления АВК отводится коагулограмме, где выявляются характерные для К-коагулопатии изменения: увеличение МНО, протромбинового времени и АЧТВ, снижение уровней II, VII, IX и X факторов свертывания крови, физиологических антикоагулянтов – протейнов С и S. При клинической диагностике коагулопатии и выявлении в коагулограмме изменений, характерных для дефицита витамина К, даже если не установлена его этиологическая причина, сразу необходимо назначение адекватной терапии: введение свежезамороженной плазмы и/или концентратов факторов протромбинового комплекса, назначение препаратов витамина К, симптоматическая терапия. С учетом большого периода полужизни суперварфаринов, коагулопатия может персистировать несколько месяцев, в течение которых необходимо продолжать лечение. При своевременной диагностике и назначении адекватной терапии прогноз в большинстве слу-

чаев благоприятный. Смертность среди людей при отравлении суперварфарином невысокая.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Источники финансирования

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

1. Хенри Д.А., Уайзман Х.М. Профилактика и лечение отравлений: пер. с англ. М.: «Медицина», 1998. 339 с. ISBN 5225033083
2. Berny P., Velardo J., Pulce C., D'amico A., Kammerer M., Lasseur R. Prevalence of anticoagulant rodenticide poisoning in humans and animals in France and substances involved // Clin. Toxicol. 2010. Vol.48, №9. P.935–941. doi: 10.3109/15563650.2010.533678
3. Carvallo F.R., Poppenga R., Kinde H., Diab S.S., Nyaoke A.C., Hill A.E., Arthur R.M., Uzal F.A. Cluster of cases of massive hemorrhage associated with anticoagulant detection in race horses // J. Vet. Diagn. Invest. 2015. Vol.27, №1. P.112–116. doi: 10.1177/1040638714559970
4. Litovitz T.L., Klein-Schwartz W., White S., Cobaugh D.J., Youniss J., Omslaer J.C., Drab A., Benson B.E. 2000 Annual report of the American Association of Poison Control Centers Toxic Exposure Surveillance System // Am. J. Emerg. Med. 2001. Vol.19, №5. P.337–395. doi: 10.1053/ajem.2001.25272
5. Litovitz T.L., Klein-Schwartz W., Rodgers G.C. Jr, Cobaugh D.J., Youniss J., Omslaer J.C., May M.E., Woolf A.D., Benson B.E. 2001 Annual report of the American Association of Poison Control Centers Toxic Exposure Surveillance System // Am. J. Emerg. Med. 2002. Vol.20, №5. P.391–452. doi: 10.1053/ajem.2002.34955
6. Watson W., Litovitz T.L., Rodgers G.C.Jr, Klein-Schwartz W., Youniss J., Rose S.R., Borys D., May M.E. 2002 Annual report of the American Association of Poison Control Centers Toxic Exposure Surveillance System // Am. J. Emerg. Med. 2003. Vol.21, №5. P.353–421. doi: 10.1016/s0735-6757(03)00088-3
7. Spahr J.E., Maul J.S., Rodgers J.M. Superwarfarin poisoning: A report of two cases and review of the literature // Am. J. Hematol. 2007. Vol.82, №7. P.656–660. doi: 10.1002/ajh.20784
8. Zhang M., Fang X., Zhou L., Su L., Zheng J., Jin M., Zou H., Chen G. Pesticide poisoning in Zhejiang, China: a retrospective analysis of adult cases registration by occupational disease surveillance and reporting systems from 2006 to 2010 // BMJ Open. 2013. Vol.3, №11. e003510–e003510. doi: 10.1136/bmjopen-2013-003510
9. Peshin S.S., Srivastava A., Halder N., Gupta Y.K. Pesticide poisoning trend analysis of 13 years: a retrospective study based on telephone calls at the National Poisons Information Centre, All India Institute of Medical Sciences, New Delhi // J. Forensic Leg. Med. 2014. Vol.22. P.57–61. doi: 10.1016/j.jflm.2013.12.013
10. Zhou L., Liu L., Chang L., Li L. Poisoning deaths in Central China (Hubei): A 10-year retrospective study of forensic autopsy cases // J. Forensic Sci. 2010. Vol.56(Suppl. 1). P.234–237. doi: 10.1111/j.1556-4029.2010.01625.x
11. Войцеховский В.В., Пивник А.В., Битюцкая Л.Г., Процко Т.Т. Приобретенная геморрагическая коагулопатия вследствие контакта с родентицидом бродифакум «Щелкунчик» // Терапевтический архив. 2012. Т.84, №7. С.66–71.
12. Галстян Г.М. Нарушения гемостаза, обусловленные дефицитом витамин К-зависимых факторов свертывания крови – патогенез, способы коррекции и рекомендации по лечению // Гематология и трансфузиология. 2012. №2. С.7–21.
13. Колосова И.В., Галстян Г.М., Орел Е.Б., Васильев С.А., Рыжко В.В., Варламова Е.Ю., Городецкий В.М. Терапия геморрагического синдрома, вызванного дефицитом витамин К-зависимых факторов свертывания крови (анализ клинической практики) // Гематология и трансфузиология. 2012. №2. С.22–30.
14. Зобнин Ю.В., Кутателадзе Р.Г., Малых А.Ф., Пазюков Е.А., Провадо И.П., Тетерина И.П. Острые отравления антикоагулянтами по данным Иркутского токсикологического центра // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2013. Т.120, №5. С.131–134.
15. Kruse J.A., Carlson R.W. Fatal poisoning with rodenticide brodifacoum // Ann. Emerg. Med.1992. Vol.21, №3. P.331–336. doi: 10.1016/s0196-0644(05)80900-x
16. Huić M., Francetić I., Bakran I., Macolić-Sarinić V., Bilusić M. Acquired coagulopathy due to anticoagulant rodenticide poisoning // Croat. Med. J. 2002. Vol.43, №5. P.615–617.
17. Zhao S.L., Li P., Ji M., Zong Y., Zhang S.T. Upper gastrointestinal hemorrhage caused by superwarfarin poisoning // World J. Gastroenterol. 2010. Vol.16, №13. P.1680–1682. doi: 10.3748/wjg.v16.i13.168
18. Chua J.D., Friedenberг W.R. Superwarfarin poisoning // Arch. Intern. Med. 1998. Vol.158, №17. P.1929–1932. doi: 10.1001/archinte.158.17.1929
19. Watson W.A., Litovitz T.L., Rodgers G.C.Jr, Klein-Schwartz W., Reid N., Youniss J., Flanagan A., Wruk K.M. 2004 Annual report of the American Association of Poison Control Centers Toxic Exposure Surveillance System // Am. J. Emerg. Med. 2005. Vol.23, №5. P.589–666. doi: 10.1016/j.ajem.2005.05.001

20. King N., Tran M.H. Long-Acting Anticoagulant Rodenticide (Superwarfarin) Poisoning: A Review of Its Historical Development, Epidemiology, and Clinical Management // *Transfus. Med. Rev.* 2015. Vol.29, №4. P.250–258. doi: 10.1016/j.tmr.2015.06.002
21. Gutiérrez W., Cerda P., Plaza-Plaza J.C., Mieres J.J., Paris E., Ríos J.C. Characterization of pesticide exposures reported between 2006 and 2013 to a poison information center in Chile // *Rev. Med. Chil.* 2015. Vol.143, №10. P.1269–1276 (in Spanish). doi: 10.4067/S0034-98872015001000009
22. Lee H.J., You M.R., Moon W.R., Sul H., Chung C.H., Park C.Y., Park S.G. Evaluation of risk factors in patients with vitamin K-dependent coagulopathy presumed to be caused by exposure to brodifacoum // *Korean J. Intern. Med.* 2014. Vol.29, №4. P.498–508. doi: 10.3904/kjim.2014.29.4.498
23. Клиническая фармакология: Национальное руководство / под ред. Ю.Б.Белоусова, В.Г.Кукес, В.К.Лепихина, В.И.Петрова М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 976 с. ISBN 978-5-9704-2810-8
24. Wojciechowski V.V., Calina D., Tsarouhas K., Pivnik A.V., Sergievich A.A., Kodintsev V.V., Filatova E.A., Ozcagli E., Docea A.O., Gofita E., Arsene A.L., Tsitsimpikou C., Tsatsakis A.M., Golokhvast K.S. A guide to acquired vitamin K coagulopathy diagnosis and treatment: the Russian perspective // *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2017. Vol.25, №1. Article number: 10. doi: 10.1186/s40199-017-0175-z
25. Проведение экстренных мероприятий по дезинсекции и дератизации в природных очагах чумы на территории Российской Федерации. Методические указания МУ 3.1.2565-09. М., 2009. URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200077783>
26. ГОСТ 12.1.007-76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. М., 2007. URL: <http://docs.cntd.ru/document/5200233>
27. Оценка токсичности и опасности дезинфицирующих средств. Методические указания МУ 1.2.1105-02. М., 2002. URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200030376>
28. Денисенко В.И. Гигиеническое обоснование безопасного производства и применения современных родентицидных средств – антикоагулянтов на основе бромациола и бродифакума: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2008.
29. Mack R.B. Not all rats have four legs. Superwarfarin poisoning // *N. C. Med. J.* 1994. Vol.55, №11. P.554–556.
30. Линг Луис Дж, Кларк Ричард Ф., Эриксон Тимоти Б., Трестрейл III Джон Х. Секреты токсикологии / пер. с англ. СПб.: Диалект, 2006. 376 с. ISBN 1-56053-410-9
31. Corke P.J. Superwarfarin (brodifacoum) poisoning // *Anaesth. Intensive Care.* 1997. Vol.25, №6. P.707–709. doi: 10.1177/0310057X9702500622
32. Abell T.L., Merigian K.S., Lee J.M., Holbert J.M., McCall J.W. 3rd. Cutaneous exposure to-like anticoagulant warfarin causing an intracerebral hemorrhage: a case report // *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 1994. Vol.32, №1. P.69–73. doi: 10.3109/15563659409000432
33. Zupancic-Salek S., Kovacevic-Metelko J., Radman I. Successful reversal of effect of anticoagulant superwarfarin poisoning with recombinant activated factor VII // *Blood Coagul. Fibrinolysis.* 2005. Vol.16, №4. P.239–244. doi: 10.1097/01.mbc.0000169215.70184.56
34. Ginja N., Coggins A., Bidny S. Management of intentional superwarfarin poisoning with long-term vitamin K and brodifacoum levels // *Clin. Toxicol. (Phila).* 2011. Vol.49, №5. P.385–390. doi: 10.3109/15563650.2011.587126
35. Özdemir Z.N., Şahin U., Merter M., Gündüz M., Ateşagaoglu B., Beksaç M. A case of superwarfarin poisoning due to repetitive occupational dermal rodenticide exposure in a worker // *Turkish J. Haematol.* 2016. Vol.33, №3. P.251–253. doi: 10.4274/tjh.2015.0433
36. Schneider W., Girmann G., Luthe R., Wagner H.J. Attempted murder with phenprocoumon (marcoumar) (author's transl) // *Dtsch Med. Wochenschr.* 1975. Vol.100, №37. P.1838–1841 (in German). doi: 10.1055/s-0028-1106469
37. McCurdy W. An attempted homicide using d-CON rat poison // *J. Anal. Toxicol.* 1988. Vol.12, №1. P.51–52. doi: 10.1093/jat/12.1.51
38. Altay S., Cakmak H.A., Boz G.C., Koca S., Velibey Y. Prolonged coagulopathy related to coumarin rodenticide in a young patient: superwarfarin poisoning // *Cardiovasc. J. Afr.* 2012. Vol.23, №9. P.9–11. doi: 10.5830/CVJA-2012-051
39. Freixo A., Lopes L., Carvalho M., Araújo F. Superwarfarine Poisoning // *Acta Méd. Port.* 2015. Vol.28, №3. P.389–392 (in Portuguese).
40. Curcic M., Dadasovic J. Suicide and attempted suicide with rodenticides from 1968 to 2000 // *Med. Pregl.* 2001. Vol.54, №5-6. P.256–260 (in Croatian).
41. Lubetsky A., Yonath H., Olchovsky D., Loebstein R., Halkin H., Ezra D. Comparison of oral vs intravenous phytonadione (vitamin K1) in patients with excessive anticoagulation: a prospective randomized controlled study // *Arch. Intern. Med.* 2003. Vol.163, №20. P.2469–2473. doi: 10.1001/archinte.163.20.2469
42. Bahouth M.N., Kraus P., Dane K., Plazas Montana M., Tsao W., Tabaac B., Jaseem J., Schmidlin H., Einstein E., Streiff M.B., Shanbhag S. Synthetic cannabinoid-associated coagulopathy secondary to long-acting anticoagulant rodenticides: Observational case series and management recommendations // *Medicine (Baltimore).* 2019. Vol.98, №36. e17015.

doi: 10.1097/MD.00000000000017015

43. Devgun J.M., Rasin A., Kim T., Mycyk M.B., Bryant S.M., Wahl M.S., DesLauriers C., Navon L., Moritz E.D., Thompson T.M., Swoboda H.D., Lu J., Aks S.E. An outbreak of severe coagulopathy from synthetic cannabinoids tainted with Long-Acting anticoagulant rodenticides // *Clin. Toxicol. (Phila)*. 2019. Vol.4. P.1–8. doi: 10.1080/15563650.2019.1690149

44. Feinstein D.L., Nosal D.G., Ramanathan S., Zhou J., Chen L., Hershow R.C., van Breemen R.B., Wright E., Hafner J.W., Rubinstein I. Effects of vitamin K1 treatment on plasma concentrations of long-acting anticoagulant rodenticide enantiomers following inhalation of contaminated synthetic cannabinoids // *Clin. Toxicol. (Phila)*. 2020. Vol.58, №7. P.716–724. doi: 10.1080/15563650.2019.1687903

45. Dashti-Khavidaki S., Ghaffari S., Nassiri-Toossi M., Amini M., Edalatfard M. Possible unaware intoxication by anticoagulant rodenticide // *J. Res. Pharm. Pract.* 2014. Vol.3, №4. P.142–144. doi: 10.4103/2279-042X.145394

46. Card D.J., Francis S., Deuchande K., Harrington D.J. Superwarfarin poisoning and its management // *BMJ Case Rep.* 2014. bcr2014206360. doi: 10.1136/bcr-2014-206360

47. Feldman M.D. *Playing Sick? Untangling the Web of Munchausen Syndrome, Munchausen by Proxy, Malingering, and Factitious Disorder.* New York: Brunner-Routledge, 2004. 328 p.

48. Баркаган З.С. Приобретенные геморрагические коагулопатии // *Руководство по гематологии / под ред. А.И.Воробьева, издание третье, в 3-х т. Т.3. М.: Ньюдиамед, 2005. С.82–90.*

49. Stanziale S.F., Christopher J.C., Fisher R.B. Brodifacoum rodenticide ingestion in a patient with shigellosis. *South. Med. J.* 1997. Vol.90, №8. P.833–835. doi: 10.1097/00007611-199708000-00013

50. Moery S., Pontious J.M. Coagulopathy associated with superwarfarin exposure // *J. Okla. State Med. Assoc.* 2009. Vol.102, №10. P.323–325.

51. Tsutaoka B., Miller M., Patel M. No adverse sequelae from an intentional overdose of superwarfarin and glass despite an INR of 38 / North American Congress of Clinical Toxicology Annual Meeting, Montreal, 2001 // *Clin. Toxicol.* 2001. Vol.39, №5. P.476.

52. Galvin H., Newton A.W., Vandeven A.M. Update on Munchausen syndrome by proxy // *Curr. Opin. Pediatr.* 2005. Vol.17, №2. P.252–257. doi: 10.1097/01.mop.0000158729.18551.dd

53. Babcock J., Hartman K., Pedersen A., Murphy M., Alving B. Rodenticide-induced coagulopathy in a young child. A case of Munchausen syndrome by proxy // *Am. J. Pediatr. Hematol. Oncol.* 1993. Vol.15, №1. P.126–130. doi: 10.1097/00043426-199302000-00021

54. Stanziale S.F., Christopher J.C., Fisher R.B. Brodifacoum rodenticide ingestion in a patient with shigellosis. *South. Med. J.* 1997. Vol.90, №8. P.833–835. doi: 10.1097/00007611-199708000-00013

55. Wu Y.F., Chang C.S., Chung C.Y., Lin H.Y., Wang C.C., Shen M.C. Superwarfarin intoxication: hematuria is a major clinical manifestation // *Int. J. Hematol.* 2009. Vol.90, №2. P.170–173. doi: 10.1007/s12185-009-0374-6

56. Ware K.M., Feinstein D.L., Rubinstein I., Weinberg G., Rovin B.H., Hebert L., Muni N., Cianciolo R.E., Satoskar A.A., Nadasdy T., Brodsky S.V. Brodifacoum induces early hemoglobinuria and late hematuria in rats: novel rapid biomarkers of poisoning // *Am. J. Nephrol.* 2015. Vol.41, №4-5. P.392–399. doi: 10.1159/000433568

57. Franco D., Everett G., Manoucheri M. I smell a rat: a case report and literature review of paradoxical thrombosis and hemorrhage in a patient with brodifacoum toxicity // *Blood Coagul. Fibrinolysis.* 2013. Vol.24, №2. P.202–204. doi: 10.1097/MBC.0b013e328358e959

58. Saja M.F., Abdo A.A., Sanai F.M., Shaikh S.A., Gader A.G. The coagulopathy of liver disease: does vitamin K help? // *Blood Coagul. Fibrinolysis.* 2013. Vol.24, №1. P.10–17. doi: 10.1097/MBC.0b013e32835975ed

59. Cao X., Li L., Zheng Y. Clinical analysis of 12 patients caused by long-acting anticoagulant rodenticide occult poisoning // *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2012; Vol.37, №8. P.849–853. doi: 10.3969/j.issn.1672-7347.2012.08.016.

60. Olmos V., Lopez C.M. Brodifacoum poisoning with toxicokinetic data // *Clin. Toxicol. (Phila)*. 2007. Vol.45, №5. P.487–489. doi: 10.1080/15563650701354093

61. Chua J.D., Friedenber W.R. Superwarfarin poisoning // *Arch. Intern. Med.* 1998. Vol.158, №17. P.1929–1932. doi: 10.1001/archinte.158.17.1929

62. Boettcher S., Wacker A., Moerike K., Kopp H-G., Jaschonek K., Grobosch T., Kanz L., Salih H.R. Acquired coagulopathy caused by intoxication with the superwarfarin-type anticoagulant rodenticide flocoumafen // *Eur. J. Haematol.* 2011. Vol.86, №2. P.173–175. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0609.2010.01550.x>

63. Nelson A.T., Hartzell J.D., More K., Durning S.J. Ingestion of superwarfarin leading to coagulopathy: a case report and review of the literature // *Medscape General Medicine.* 2006. Vol.8, №4. Article number 41.

64. Watson K.S., Mills G.M., Burton G.V. Superwarfarin intoxication: two case reports and review of pathophysiology and patient management // *J. La State Med. Soc.* 2012. Vol.164, №2. P.70–72.

65. Helmuth R.A., McCloskey D.W., Doedens D.J., Hawley D.A. Fatal ingestion of brodifacoum-containing rodenticide // *Laboratory Medicine.* 1989. Vol.20, №1. P.25–27. <https://doi.org/10.1093/labmed/20.1.25>

66. Ingels M., Lai C., Tai W., Manning B.H., Rangan C., Williams S.R., Manoguerra A.S., Albertson T., Clark R.F. A prospective study of acute, unintentional, pediatric superwarfarin ingestions managed without decontamination // *Ann. Emerg. Med.* 2002. Vol.40, №1. P.73–78. doi: 10.1067/mem.2002.125449
67. Yiu K.H., Siu C.W., Jim M.H., Tse H.F., Fan K., Chau M.C., Chow W.H. Comparison of the efficacy and safety profiles of intravenous vitamin K and fresh frozen plasma as treatment of warfarin-related over anticoagulation in patients with mechanical heart valves // *Am. J. Cardiol.* 2006. Vol.97, №3. P.409–411. doi: 10.1016/j.amjcard.2005.08.062
68. Медицинская токсикология: национальное руководство / под ред. Е.А.Лужникова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 928 с. ISBN 978-5-9704-2971-6
69. Галстян Г.М. Применение концентратов протромбинового комплекса по утвержденным и неутвержденным показаниям: новые перспективы старых препаратов // *Гематология и трансфузиология.* 2018; Т.63, №1. С.78–91. <https://doi.org/10.25837/HAT.2018.30..1..008>

REFERENCES

1. Henry J.A., Wiseman H.M. Management of poisoning. A handbook for health care workers. Moscow: Meditsina; 1998 (in Russian). ISBN 5225033083
2. Berny P., Velardo J., Pulce C., D'amico A., Kammerer M., Lasseur R. Prevalence of anticoagulant rodenticide poisoning in humans and animals in France and substances involved. *Clin. Toxicol.* 2010; 48(9):935–941. doi: 10.3109/15563650.2010.533678
3. Carvallo F.R., Poppenga R., Kinde H., Diab S.S., Nyaoke A.C., Hill A.E., Arthur R.M., Uzal F.A. Cluster of cases of massive hemorrhage associated with anticoagulant detection in race horses. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2015; 27(1):P.112–116. doi: 10.1177/1040638714559970
4. Litovitz T.L., Klein-Schwartz W., White S., Cobaugh D.J., Youniss J., Omslaer J.C., Drab A., Benson B.E. 2000 Annual report of the American Association of Poison Control Centers Toxic Exposure Surveillance System. *Am. J. Emerg. Med.* 2001; 19(5):337–395. doi: 10.1053/ajem.2001.25272
5. Litovitz T.L., Klein-Schwartz W., Rodgers G.C. Jr, Cobaugh D.J., Youniss J., Omslaer J.C., May M.E., Woolf A.D., Benson B.E. 2001 Annual report of the American Association of Poison Control Centers Toxic Exposure Surveillance System. *Am. J. Emerg. Med.* 2002; 20(5):391–452. doi: 10.1053/ajem.2002.34955
6. Watson W., Litovitz T.L., Rodgers G.C.Jr, Klein-Schwartz W., Youniss J., Rose S.R., Borys D., May M.E. 2002 Annual report of the American Association of Poison Control Centers Toxic Exposure Surveillance System. *Am. J. Emerg. Med.* 2003; 21(5):353–421. doi: 10.1016/s0735-6757(03)00088-3
7. Spahr J.E., Maul J.S., Rodgers J.M. Superwarfarin poisoning: A report of two cases and review of the literature. *Am. J. Hematol.* 2007; 82(7):656–660. doi: 10.1002/ajh.20784
8. Zhang M., Fang X., Zhou L., Su L., Zheng J., Jin M., Zou H., Chen G. Pesticide poisoning in Zhejiang, China: a retrospective analysis of adult cases registration by occupational disease surveillance and reporting systems from 2006 to 2010. *BMJ Open* 2013; 3(11):e003510–e003510. doi: 10.1136/bmjopen-2013-003510
9. Peshin S.S., Srivastava A., Halder N., Gupta Y.K. Pesticide poisoning trend analysis of 13 years: a retrospective study based on telephone calls at the National Poisons Information Centre, All India Institute of Medical Sciences, New Delhi. *J. Forensic Leg. Med.* 2014; 22:57–61. doi: 10.1016/j.jflm.2013.12.013
10. Zhou L., Liu L., Chang L., Li L. Poisoning deaths in Central China (Hubei): A 10-year retrospective study of forensic autopsy cases. *J. Forensic Sci.* 2010; 56(Suppl. 1):234–237. doi: 10.1111/j.1556-4029.2010.01625.x
11. Voitsekhovskii V.V., Pivnik A.V., Bitiutskaja L.G., Protsko T.T. Acquired hemorrhagic coagulopathy due to contact with the rodenticide brodifacoum in the Nutcracker bait. *Terapevticheskiy arkhiv* 2012; 84(7):66–71 (in Russian).
12. Galstyan G.M. Hemostasis disorders caused by deficiency of vitamin K-dependent coagulation factors: pathogenesis, correction methods and recommendations for treatment. *Gematologiya i Transfuziologiya* 2012; (2):7–21 (in Russian).
13. Kolosova I.V., Galstyan G.M., Orel E.B., Vasilyev S.A., Ryzhko V.V., Varlamova E.Yu., Gorodetsky V.M. Therapy for the hemorrhagic syndrome caused by deficiency of vitamin K-dependent coagulation factors (analysis of clinical cases). *Gematologiya i Transfuziologiya* 2012; (2):22–30 (in Russian).
14. Zobnin Yu.V., Kutateladze R.G., Malykh A.F., Pazyukov E.A., Provado I.P., Teterina I.P. Acute poisonings with anticoagulants according to the data of the Irkutsk Toxicological Center. *Siberian Medical Journal (Irkutsk)* 2013; 120(5):131–134 (in Russian).
15. Kruse J.A., Carlson R.W. Fatal poisoning with rodenticide brodifacoum. *Ann. Emerg. Med.* 1992; 21(3):331–336. doi: 10.1016/s0196-0644(05)80900-x
16. Huić M., Francetić I., Bakran I., Macolić-Sarinić V., Bilusić M. Acquired coagulopathy due to anticoagulant rodenticide poisoning. *Croat. Med. J.* 2002; 43(5):615–617.
17. Zhao S.L., Li P., Ji M., Zong Y., Zhang S.T. Upper gastrointestinal hemorrhage caused by superwarfarin poisoning. *World J. Gastroenterol.* 2010; 16(13):1680–1682. doi: 10.3748/wjg.v16.i13.168

18. Chua J.D., Friedenberг W.R. Superwarfarin poisoning. *Arch. Intern. Med.* 1998; 158(17):1929–1932. doi: 10.1001/archinte.158.17.1929
19. Watson W.A., Litovitz T.L., Rodgers G.C.Jr, Klein-Schwartz W., Reid N., Youniss J., Flanagan A., Wruk K.M. 2004 Annual report of the American Association of Poison Control Centers Toxic Exposure Surveillance System. *Am. J. Emerg. Med.* 2005; 23(5):589–666. doi: 10.1016/j.ajem.2005.05.001
20. King N., Tran M.H. Long-Acting Anticoagulant Rodenticide (Superwarfarin) Poisoning: A Review of Its Historical Development, Epidemiology, and Clinical Management. *Transfus. Med. Rev.* 2015; 29(4):250–258. doi: 10.1016/j.tmr.2015.06.002
21. Gutiérrez W., Cerda P., Plaza-Plaza J.C., Mieres J.J., Paris E., Ríos J.C. Characterization of pesticide exposures reported between 2006 and 2013 to a poison information center in Chile. *Rev. Med. Chil.* 2015; 143(10):1269–1276 (in Spanish). doi: 10.4067/S0034-98872015001000009
22. Lee H.J., You M.R., Moon W.R., Sul H., Chung C.H., Park C.Y., Park S.G. Evaluation of risk factors in patients with vitamin K-dependent coagulopathy presumed to be caused by exposure to brodifacoum. *Korean J. Intern. Med.* 2014; 29(4):498–508. doi: 10.3904/kjim.2014.29.4.498
23. Belousov Yu.B., Kukes V.G., Lepakhin V.K., Pertrov V.I., editors. Clinical Pharmacology: National Guidelines. Moscow: GEOTAR-Media; 2014 (in Russian). ISBN 978-5-9704-2810-8
24. Wojciechowski V.V., Calina D., Tsarouhas K., Pivnik A.V., Sergievich A.A., Kodintsev V.V., Filatova E.A., Ozcagli E., Docea A.O., Gofita E., Arsene A.L., Tsitsimpikou C., Tsatsakis A.M., Golokhvast K.S. A guide to acquired vitamin K coagulopathy diagnosis and treatment: the Russian perspective. *DARU* 2017; 25(1):10. doi: 10.1186/s40199-017-0175-z
25. Carrying out emergency measures for disinsection and deratization in natural foci of plague on the territory of the Russian Federation. Methodological instructions MU 3.1.2565-09. Moscow; 2009 (in Russian). Available at: <http://docs.cntd.ru/document/1200077783>
26. GOST 12.1.007-76. Occupational safety standards system. Noxious substances. Classification and general safety requirements. Moscow; 2007 (in Russian). Available at: <http://docs.cntd.ru/document/5200233>
27. Assessment of toxicity and hazard of disinfectants. Methodical instructions MU 1.2.1105-02. Moscow; 2002 (in Russian). Available at: <http://docs.cntd.ru/document/1200030376>
28. Denisenko V.I. Hygienic rationale for the safe production and use of modern rodenticidal agents – anticoagulants based on bromadiolone and brodifacoum: abstract of PhD thesis. Moscow; 2008 (in Russian).
29. Mack R.B. Not all rats have four legs. Superwarfarin poisoning. *N. C. Med. J.* 1994; 55(11):554–556.
30. Ling L.J., Clark R.F., Erickson T.B., Trestrail J.H. 3rd Toxicology Secrets. St. Petersburg: Dialect; 2006 (in Russian). ISBN 1-56053-410-9
31. Corke P.J. Superwarfarin (brodifacoum) poisoning. *Anaesth. Intensive Care* 1997; 25(6):707–709. doi: 10.1177/0310057X9702500622
32. Abell T.L., Merigian K.S., Lee J.M., Holbert J.M., McCall J.W. 3rd. Cutaneous exposure to-like anticoagulant warfarin causing an intracerebral hemorrhage: a case report. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 1994; 32(1):69–73. doi: 10.3109/15563659409000432
33. Zupancic-Salek S., Kovacevic-Metelko J., Radman I. Successful reversal of effect of anticoagulant superwarfarin poisoning with recombinant activated factor VII. *Blood Coagul. Fibrinolysis* 2005; 16(4):239–244. doi: 10.1097/01.mbc.0000169215.70184.56
34. Ginja N., Coggins A., Bidny S. Management of intentional superwarfarin poisoning with long-term vitamin K and brodifacoum levels. *Clin. Toxicol. (Phila)* 2011; 49(5):385–390. doi: 10.3109/15563650.2011.587126
35. Özdemir Z.N., Şahin U., Merter M., Gündüz M., Ateşgaçoğlu B., Beksaç M. A case of superwarfarin poisoning due to repetitive occupational dermal rodenticide exposure in a worker. *Turkish J. Haematol.* 2016; 33(3):251–253. doi: 10.4274/tjh.2015.0433
36. Schneider W., Girmann G., Luthe R., Wagner H.J. Attempted murder with phenprocoumon (marcoumar) (author's transl). *Dtsch Med. Wochenschr.* 1975; 100(37):1838–1841 (in German). doi: 10.1055/s-0028-1106469
37. McCurdy W. An attempted homicide using d-CON rat poison. *J. Anal. Toxicol.* 1988; 12(1):51–52. doi: 10.1093/jat/12.1.51
38. Altay S., Cakmak H.A., Boz G.C., Koca S., Velibey Y. Prolonged coagulopathy related to coumarin rodenticide in a young patient: superwarfarin poisoning. *Cardiovasc. J. Afr.* 2012; 23(9):e9–e11. doi: 10.5830/CVJA-2012-051
39. Freixo A., Lopes L., Carvalho M., Araújo F. Superwarfarine Poisoning. *Acta Méd. Port.* 2015; 28(3):389–392. (in Portuguese).
40. Curcic M., Dadasovic J. Suicide and attempted suicide with rodenticides from 1968 to 2000. *Med. Pregl.* 2001; 54(5-6). P.256–260 (in Croatian).
41. Lubetsky A., Yonath H., Olchovsky D., Loebstein R., Halkin H., Ezra D. Comparison of oral vs intravenous phytonadione (vitamin K1) in patients with excessive anticoagulation: a prospective randomized controlled study. *Arch. Intern.*

Med. 2003; 163(20):2469–2473. doi: 10.1001/archinte.163.20.2469

42. Bahouth M.N., Kraus P., Dane K., Plazas Montana M., Tsao W., Tabaac B., Jaseem J., Schmidlin H., Einstein E., Streiff M.B., Shanbhag S. Synthetic cannabinoid-associated coagulopathy secondary to long-acting anticoagulant rodenticides: Observational case series and management recommendations. *Medicine (Baltimore)* 2019; 98(36):e17015. doi: 10.1097/MD.00000000000017015

43. Devgun J.M., Rasin A., Kim T., Mycyk M.B., Bryant S.M., Wahl M.S., DesLauriers C., Navon L., Moritz E.D., Thompson T.M., Swoboda H.D., Lu J., Aks S.E. An outbreak of severe coagulopathy from synthetic cannabinoids tainted with Long-Acting anticoagulant rodenticides. *Clin. Toxicol. (Phila)* 2019; 4:1–8. doi: 10.1080/15563650.2019.1690149

44. Feinstein D.L., Nosal D.G., Ramanathan S., Zhou J., Chen L., Hershow R.C., van Breemen R.B., Wright E., Hafner J.W., Rubinstein I. Effects of vitamin K1 treatment on plasma concentrations of long-acting anticoagulant rodenticide enantiomers following inhalation of contaminated synthetic cannabinoids. *Clin. Toxicol. (Phila)* 2020; 58(7):716–724. doi: 10.1080/15563650.2019.1687903

45. Dashti-Khavidaki S., Ghaffari S., Nassiri-Toossi M., Amini M., Edalatfard M. Possible unaware intoxication by anticoagulant rodenticide. *J. Res. Pharm. Pract.* 2014; 3(4):142–144. doi: 10.4103/2279-042X.145394

46. Card D.J., Francis S., Deuchande K., Harrington D.J. Superwarfarin poisoning and its management. *BMJ Case Reports* 2014; Oct 13:bcr2014206360. doi: 10.1136/bcr-2014-206360

47. Feldman M.D. *Playing Sick? Untangling the Web of Munchausen Syndrome, Munchausen by Proxy, Malingering, and Factitious Disorder.* New York: Brunner-Routledge; 2004.

48. Barkagan Z.S. Acquired hemorrhagic coagulopathy. In: Vorob'yov A.I., editor. *Guide to Hematology.* Third edition. Vol.3. Moscow: N'yudiamed; 2005:82–90 (in Russian).

49. Stanziale S.F., Christopher J.C., Fisher R.B. Brodifacoum rodenticide ingestion in a patient with shigellosis. *South. Med. J.* 1997; 90(8):833–835. doi: 10.1097/00007611-199708000-00013

50. Moery S., Pontious J.M. Coagulopathy associated with superwarfarin exposure. *J. Okla. State Med. Assoc.* 2009; 102(10):323–325.

51. Tsutaoka B., Miller M., Patel M. No adverse sequelae from an intentional overdose of superwarfarin and glass despite an INR of 38. In: North American Congress of Clinical Toxicology Annual Meeting, Montreal. 2001; Oct: 4–9. *Clin. Toxicol.* 2001; 39(5):476.

52. Galvin H., Newton A.W., Vandeven A.M. Update on Munchausen syndrome by proxy. *Curr. Opin. Pediatr.* 2005; 17(2):252–257. doi: 10.1097/01.mop.0000158729.18551.dd

53. Babcock J., Hartman K., Pedersen A., Murphy M., Alving B. Rodenticide-induced coagulopathy in a young child. A case of Munchausen syndrome by proxy. *Am. J. Pediatr. Hematol. Oncol.* 1993; 15(1):126–130. doi: 10.1097/00043426-199302000-00021

54. Stanziale S.F., Christopher J.C., Fisher R.B. Brodifacoum rodenticide ingestion in a patient with shigellosis. *South. Med. J.* 1997; 90(8):833–835. doi: 10.1097/00007611-199708000-00013

55. Wu Y.F., Chang C.S., Chung C.Y., Lin H.Y., Wang C.C., Shen M.C. Superwarfarin intoxication: hematuria is a major clinical manifestation. *Int. J. Hematol.* 2009; 90(2):170–173. doi: 10.1007/s12185-009-0374-6

56. Ware K.M., Feinstein D.L., Rubinstein I., Weinberg G., Rovin B.H., Hebert L., Muni N., Cianciolo R.E., Satoskar A.A., Nadasdy T., Brodsky S.V. Brodifacoum induces early hemoglobinuria and late hematuria in rats: novel rapid biomarkers of poisoning. *Am. J. Nephrol.* 2015; 41(4-5):392–399. doi: 10.1159/000433568

57. Franco D., Everett G., Manoucheri M. I smell a rat: a case report and literature review of paradoxical thrombosis and hemorrhage in a patient with brodifacoum toxicity. *Blood Coagul. Fibrinolysis* 2013; 24(2):202–204. doi: 10.1097/MBC.0b013e328358e9

58. Saja M.F., Abdo A.A., Sanai F.M., Shaikh S.A., Gader A.G. The coagulopathy of liver disease: does vitamin K help? *Blood Coagul. Fibrinolysis* 2013; 24(1):10–17. doi: 10.1097/MBC.0b013e32835975ed

59. Cao X., Li L., Zheng Y. Clinical analysis of 12 patients caused by long-acting anticoagulant rodenticide occult poisoning. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2012; 37(8):849–853. doi: 10.3969/j.issn.1672-7347.2012.08.016

60. Olmos V., Lopez C.M. Brodifacoum poisoning with toxicokinetic data. *Clin. Toxicol. (Phila)* 2007; 45(5):487–489. doi: 10.1080/15563650701354093

61. Chua J.D., Friedenber W.R. Superwarfarin poisoning. *Arch. Intern. Med.* 1998; 158(17):1929–1932. doi: 10.1001/archinte.158.17.1929

62. Boettcher S., Wacker A., Moerike K., Kopp H-G., Jaschonek K., Grobosch T., Kanz L., Salih H.R. Acquired coagulopathy caused by intoxication with the superwarfarin-type anticoagulant rodenticide flocoumafen. *Eur. J. Haematol.* 2011; 86(2):173–175. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0609.2010.01550.x>

63. Nelson A.T., Hartzell J.D., More K., Durning S.J. Ingestion of superwarfarin leading to coagulopathy: a case report and review of the literature. *Medscape General Medicine* 2006; 8(4):41.

64. Watson K.S., Mills G.M., Burton G.V. Superwarfarin intoxication: two case reports and review of pathophysiology and patient management. *J. La State Med. Soc.* 2012; 164(2):70–72.

65. Helmuth R.A., McCloskey D.W., Doedens D.J., Hawley D.A. Fatal ingestion of brodifacoum-containing rodenticide. *Laboratory Medicine* 1989; 20(1):25–27. <https://doi.org/10.1093/labmed/20.1.25>
66. Ingels M., Lai C., Tai W., Manning B.H., Rangan C., Williams S.R., Manoguerra A.S., Albertson T., Clark R.F. A prospective study of acute, unintentional, pediatric superwarfarin ingestions managed without decontamination. *Ann. Emerg. Med.* 2002; 40(1):73–78. doi: 10.1067/mem.2002.125449
67. Yiu K.H., Siu C.W., Jim M.H., Tse H.F., Fan K., Chau M.C., Chow W.H. Comparison of the efficacy and safety profiles of intravenous vitamin K and fresh frozen plasma as treatment of warfarin-related over anticoagulation in patients with mechanical heart valves. *Am. J. Cardiol.* 2006; 97(3):409–411. doi: 10.1016/j.amjcard.2005.08.062
68. Luzhnikov E.A., editor. Medical toxicology: National guidelines. Moscow: GEOTAR-Media: 2014 (in Russian). ISBN 978-5-9704-2971-6
69. Galstyan G.M. Label and off-label applications of prothrombin complex concentrates. new perspectives of old drugs. *Russian journal of hematology and transfusiology* 2018; 63(1):78–91 (in Russian). <https://doi.org/10.25837/HAT.2018.30..1..008>

Информация об авторах:

Валерий Владимирович Войцеховский, д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой госпитальной терапии с курсом фармакологии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации; e-mail: voitsehovskij@yandex.ru

Александр Васильевич Пивник, д-р мед. наук, профессор, руководитель отдела онкогематологии и вторичных иммунодефицитных заболеваний, Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Московский клинический научный центр имени А.С.Логина» Департамента здравоохранения города Москвы»; e-mail: avpivnik@mail.ru

Екатерина Александровна Филатова, канд. мед. наук, врач гематологического отделения, Государственное автономное учреждение здравоохранения Амурской области «Амурская областная клиническая больница»; e-mail: ekaterina.gladun.86@mail.ru

Татьяна Владимировна Есенина, врач-гематолог, заведующая гематологическим отделением, Государственное автономное учреждение здравоохранения Амурской области «Амурская областная клиническая больница»; e-mail: gematology@bk.ru

Кристина Михайловна Мишкурова, врач гематологического отделения, Государственное автономное учреждение здравоохранения Амурской области «Амурская областная клиническая больница»; e-mail: mishkurova555@gmail.com

Наталья Анатольевна Федорова, врач гематологического отделения, Государственное автономное учреждение здравоохранения Амурской области «Амурская областная клиническая больница»; e-mail: AOKB@amurzdav.ru

Author information:

Valeriy V. Voytsekhovskiy, MD, PhD, D.Sc. (Med.), Associate Professor, Head of Department of Hospital Therapy with Pharmacology Course, Amur State Medical Academy; e-mail: voitsehovskij@yandex.ru

Aleksandr V. Pivnik, MD, PhD, D.Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Oncohematology and Secondary Immunodeficiency Diseases, The Loginov Moscow Clinical Scientific Center; e-mail: avpivnik@mail.ru

Ekaterina A. Filatova, MD, PhD (Med.), Hematologist, Amur Regional Clinical Hospital; e-mail: ekaterina.gladun.86@mail.ru

Tatiana V. Esenina, MD, Hematologist, Head of Department of Hematology, Amur Regional Clinical Hospital; e-mail: gematology@bk.ru

Kristina M. Mishkurova, MD, Hematologist, Amur Regional Clinical Hospital; e-mail: mishkurova555@gmail.com

Natalia A. Fedorova, MD, Hematologist, Amur Regional Clinical Hospital; e-mail: natalia_fedorova04@mail.ru

Поступила 24.08.2020
Принята к печати 07.09.2020

Received August 24, 2020
Accepted September 07, 2020

Подписано к печати 17.12.2020. Дата выхода из печати 30.12.2020. Дата выхода в свет: 21.12.2020. Сверстано в ДНЦ ФПД, отпечатано в типографии ООО "Издательско-полиграфический комплекс ОДЕОН", г. Благовещенск, ул. Вокзальная, 75. Формат 60x84 1/8. Усл. печ. л. 20,7. Тираж 500 экз. Учредитель и издатель журнала Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания". Адрес издателя: 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22. Телефон (факс) 77-28-00. Главный редактор академик РАН В.П. Колосов. Ответственный за выпуск д.м.н. А.Н. Одириев.
Свободная цена.