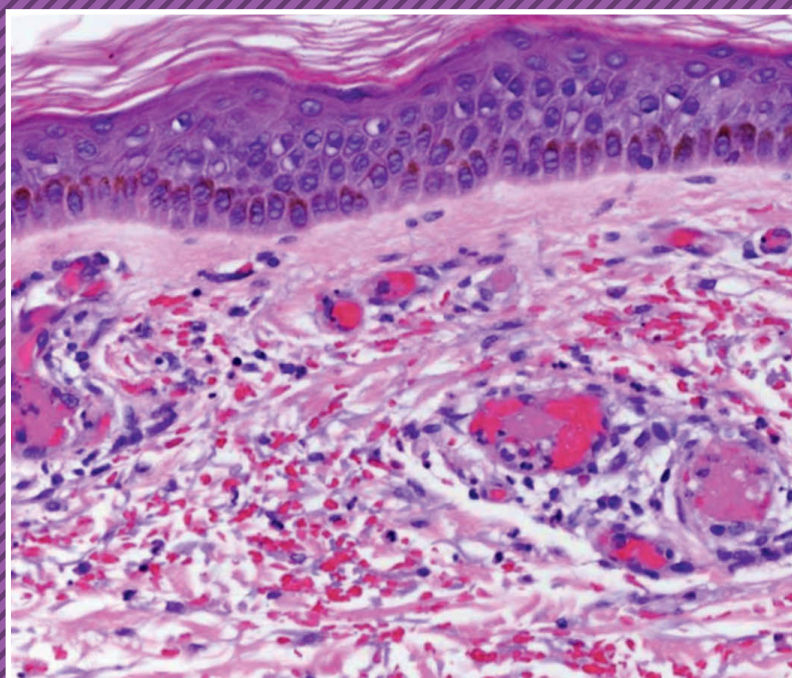


# RUSSIAN BIOMEDICAL RESEARCH

РОССИЙСКИЕ БИОМЕДИЦИНСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ



2021  
Volume 6  
# 3

# RUSSIAN BIOMEDICAL RESEARCH

2021, VOLUME 6, N 3

SCIENTIFIC AND PRACTICAL JOURNAL FOR DOCTORS

Рецензируемый  
научно-практический журнал  
RUSSIAN BIOMEDICAL RESEARCH  
РОССИЙСКИЕ БИОМЕДИЦИНСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Основан в 2016 году в Санкт-Петербурге

ISSN 2658-6584

eISSN 2658-6576

Выпускается 4 раза в год

Журнал реферируется РЖ ВИНИТИ

#### Издатели, учредители:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России (адрес: 194100, Санкт-Петербург, Литовская ул., д. 2), Фонд НОИ «Здоровые дети — будущее страны» (адрес: 197371, Санкт-Петербург, ул. Парашютная, д. 31, к. 2, кв. 53).

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (РОСКОМНАДЗОР) ПИ № ФС77-74228 от 02 ноября 2018 г.

Журнал индексируется в РИНЦ. Договор на включение журнала в базу РИНЦ: № 538-10/2016 от 06.10.2016, страница журнала в Российской научной электронной библиотеке [http://elibrary.ru/title\\_about.asp?id=62014](http://elibrary.ru/title_about.asp?id=62014).

Проект-макет: Титова Л.А.

Электронная версия —

<http://www.gpmu.org/science/pediatrics-magazine/>  
Russian\_Biomedical\_Research, <http://elibrary.ru>

Титова Л.А. (выпускающий редактор)

Варламова И.Н. (верстка)

Адрес редакции: Литовская ул., 2,  
Санкт-Петербург, 194100;  
тел./факс: (812) 295-31-55; e-mail: [lt2007@inbox.ru](mailto:lt2007@inbox.ru)

Статьи просьба направлять по адресу:  
[scrcenter@mail.ru](mailto:scrcenter@mail.ru)

#### Address for correspondence:

2, Litovskaya St., St. Petersburg, 194100, Russia.  
Tel/Fax: +7 (812) 295-31-55.  
E-mail: [lt2007@inbox.ru](mailto:lt2007@inbox.ru).

Формат 60 × 90/8. Усл.-печ. л. 6,5.

Тираж до 500 экз. Цена свободная.

Оригинал-макет изготовлен  
ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России.

Отпечатано ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России  
Литовская ул., 2, Санкт-Петербург, 194100.  
Заказ 95. Подписано в печать 02.11.2021.  
Дата выхода 12.11.2021.

Полное или частичное воспроизведение материалов, содержащихся в настоящем издании, допускается только с письменного разрешения редакции.

Ссылка на журнал «Российские биомедицинские исследования / Russian Biomedical Research» обязательна.

#### Редакционная коллегия: Editorial Board:

Главный редактор Head Editor

д. м. н., профессор А.Г. Васильев Professor A.G. Vasilev, MD, PhD

Заместитель главного редактора Head Editor-in-Chief

д. м. н., профессор Н.Р. Карелина Professor N.R. Karelina, MD, PhD

Технический редактор Technical Editor

М.А. Пахомова M.A. Pahomova

Профессор Г. Алиев (США) G. Aliev, MD, PhD, Prof. (USA)

д. м. н., профессор Е.В. Зиновьев E.V. Zinoviev, MD, PhD, Prof.

чл.-корр. РАН, д.м.н., проф. А.М. Иванов A.M. Ivanov, MD, PhD, Prof., corr. member. RAS

чл.-корр. РАН, д. м. н., проф. Е.Н. Имянитов E.N. Imianitov, MD, PhD, Prof., corr. member. RAS

д.м.н. профессор А.С. Колбин A.S. Kolbin, MD, PhD, Prof.

д. м. н., профессор А.М. Королюк A.M. Koroljuk, MD, PhD, Prof.

д. м. н., профессор С.А. Лытаев S.A. Lytaev, MD, PhD, Prof.

д. б. н., профессор А.Т. Марьянович A.T. Maryanovich, MD, PhD (biology), Prof.

д. м. н., профессор Г.Л. Микиртчян G.L. Mikirtichan, MD, PhD, Prof.

д. б. н., профессор А.А. Миронов (Италия) A.A. Mironov, PhD (biology), Prof. (Italy)

д. м. н., профессор И.Б. Михайлов I.B. Mihailov, MD, PhD, Prof.

д. м. н., профессор В.И. Николаев V.I. Nikolaev, MD, PhD, Prof.

д. б. н., профессор В.О. Полякова V.O. Polyakova, PhD (biology), Prof.

д. м. н., профессор А.М. Савичева A.M. Savicheva, MD, PhD, Prof.

к. м. н., доцент Л.П. Чурилов L.P. Churilov, MD, PhD

д. м. н. профессор П.Д. Шабанов P.D. Shabanov, MD, PhD, Prof.

2021, ТОМ 6, № 3

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ ДЛЯ ВРАЧЕЙ

РОССИЙСКИЕ БИОМЕДИЦИНСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

---

# СОДЕРЖАНИЕ CONTENT

---

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

---

*А.Р. Хисамутдинова, Н.Р. Карелина, Л.Ю. Артюх*  
Особенности остеогенеза у здоровых девочек  
с разными соматометрическими характеристиками  
и у девочек с задержкой роста ..... 3

*В.А. Рябкова, Н.Ю. Гаврилова, Д. Кандук,  
Л.П. Чурилов, И. Шенфельд*  
Синдром постковидных нарушений  
и его иммунопатологические механизмы.  
Роль аутоиммунитета..... 7

*М.С. Некрасов, И.О. Ищенко, В.Б. Царакаев,  
А.Д. Мочалова, А.С. Могилева, Т.В. Брус,  
А.В. Васильева, А.А. Лебедев, С.С. Пюрвеев*  
Роль микробиоты кишечника в патогенезе болезни  
Паркинсона (экспериментальное исследование) ..... 12

*Т.В. Брус, С.С. Пюрвеев, А.В. Васильева,  
М.М. Забежинский, А.А. Кравцова,  
М.А. Пахомова, В.И. Утехин*  
Морфологические изменения печени  
при жировой дистрофии различной этиологии ..... 21

## ОБЗОРЫ

---

*М.М. Забежинский, М.И. Музыкин,  
А.К. Иорданишвили, А.В. Васильева*  
Системный остеопороз и патология костной ткани пародонта:  
патогенетические связи, статистические корреляции,  
значение для клинической практики ..... 27

## ЛЕКЦИИ

---

*Д.П. Гладин, А.М. Королюк, И.В. Дробот,  
Н.С. Козлова, И.Д. Анненкова*  
Полимеразная цепная реакция в микробиологии (лекция)..... 36

## ИНФОРМАЦИЯ

---

Правила для авторов ..... 47

## ORIGINAL PAPERS

---

*A.R. Khisamutdinova, N.R. Karelina, L.Yu. Artyukh*  
Peculiarities of osteogenesis in healthy girls  
with different somatometric characteristics  
and girls with stunted growth ..... 3

*V.A. Ryabkova, N.Yu. Gavrilova, D. Kanduc,  
L.P. Churilov, Y. Shoenfeld*  
Post-covid syndrome  
and its immunopathological mechanisms.  
The role of autoimmunity ..... 7

*M.S. Nekrasov, I.O. Ishchenko, V.B. Tsarakaev,  
A.D. Mochalova, A.S. Mogileva, T.V. Brus,  
A.V. Vasilyeva, A.A. Lebedev, S.S. Pyurveev*  
The role of intestinal microbiota in Parkinson's  
disease pathogenesis (experimental study) ..... 12

*T.V. Brus, S.S. Pyurveev, A.V. Vasilieva,  
M.M. Zabeghinsky, A.A. Kravtsova,  
M.A. Pahomova, V.J. Utekhin*  
Morphological liver changes in case of various  
etiologic fatty dystrophy ..... 21

## REVIEWS

---

*M.M. Zabezhinsky, M.I. Muzikin,  
A.K. Iordanishvili, A.V. Vasilieva*  
Systemic osteoporosis and periodontal bone pathology:  
pathogenetic relationships, statistical correlations,  
significance for clinical practice ..... 27

## LECTURES

---

*D.P. Gladin, A.M. Korolyuk, I.V. Drobot,  
N.S. Kozlova, I.D. Annenkova*  
Polymerase chain reaction in microbiology (lecture) ..... 36

## INFORMATION

---

Rules for authors ..... 47

## ОСОБЕННОСТИ ОСТЕОГЕНЕЗА У ЗДОРОВЫХ ДЕВОЧЕК С РАЗНЫМИ СОМАТОМЕТРИЧЕСКИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ И У ДЕВОЧЕК С ЗАДЕРЖКОЙ РОСТА

© Аида Равильевна Хисамутдинова, Наталья Рафаиловна Карелина, Линард Юрьевич Артюх

Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет. 194100, Санкт-Петербург, Литовская ул., д. 2

**Контактная информация:** Аида Равильевна Хисамутдинова — к. м. н., доцент кафедры анатомии человека. E-mail: aidaspb13@mail.ru.

Поступила: 02.06.2021

Одобрена: 12.08.2021

Принята к печати: 17.09.2021

---

**Резюме:** Проведено изучение процессов остеогенеза костей кисти и дистального отдела предплечья у девочек с разными росто-весовыми показателями. Основываясь на результатах соматометрии и рентгенологического исследования костей кисти и дистального отдела предплечья, выделены три типа развития: ретардированный, средний и акселерированный. Для оценки задержки роста у детей был использован метод сигмальных отклонений. Определены рентгенологические признаки эндокринного генеза задержки роста. Анализ результатов исследования показателей физического развития и процессов остеогенеза выявил следующее: девочки исследуемой группы по показателям роста и веса более однородны по сравнению с мальчиками, а развитие скелета протекает более плавно. В данной работе описаны основные, конституционально обусловленные, варианты остеогенеза, соответствующие акселерированному, среднему и ретардированному типам развития. Результаты исследования показывают, что ретардированный тип развития характерен как для здоровых девочек, так и для большинства девочек с задержкой роста.

**Ключевые слова:** кости кисти; остеогенез; девочки; задержка роста; соматотип; костный возраст.

---

## PECULIARITIES OF OSTEOGENESIS IN HEALTHY GIRLS WITH DIFFERENT SOMATOMETRIC CHARACTERISTICS AND GIRLS WITH STUNTED GROWTH

© Aida R. Khisamutdinova, Natalya R. Karelina, Linard Yu. Artyukh

Saint-Petersburg State Pediatric Medical University. 194100, Saint-Petersburg, Litovskaya str., 2

**Contact information:** Aida R. Khisamutdinova — Candidate of Sciences in Medicine, Associate Professor of the Department of Human Anatomy. E-mail: aidaspb13@mail.ru.

Received: 02.06.2021

Revised: 12.08.2021

Accepted: 17.09.2021

---

**Abstract:** The processes of osteogenesis of the bones of the hand and distal forearm in girls with different height and weight indicators were studied. Based on the results of somatometry and X-ray examination of the bones of the hand and distal forearm, three types of development were identified: retarded, medium and accelerated. To assess growth retardation in children, the method of sigma deviations was used. X-ray signs of endocrine genesis of growth retardation were determined. Analysis of the results of the study of indicators of physical development and processes of osteogenesis revealed the following: the girls of the study group are more homogeneous in terms of height and weight, compared with boys, and the development of the skeleton proceeds more smoothly. This paper describes the main, constitutionally conditioned, variants of osteogenesis corresponding to accelerated, medium and retarded types of development. The results of the study show that the retarded type of development is characteristic of both healthy girls and most girls with growth retardation.

**Key words:** osteogenesis of forearm and hand; bone age; biological age; girls; growth retardation; somatotype.

---

## ВВЕДЕНИЕ

Исследования многих авторов убедительно доказывают, что современные дети и подростки развиваются гетерохронно (когда группы, сходные по полу и хронологическому возрасту, имеют различия в темпах развития и созревания органов и систем) [2–5, 7, 10]. Основной биологической характеристикой организма человека является темп индивидуального развития, и в случаях, когда наблюдается выраженное отличие биологического от хронологического возраста индивидуума, можно говорить о наличии фактора риска в процессе онтогенеза [6, 8, 9, 12]. Определение биологического возраста представляется весьма важным для правильной оценки физического развития детей и подростков в работе практикующего врача. В этом случае костный или скелетный возраст как показатель биологической зрелости организма является весьма надежным и объективным критерием оценки [11].

Большинство авторов описывают различные темпы остеогенеза детей и подростков в зависимости от типа соматического развития: акселерированный, средний и ретардированный [1, 2, 14]. Следовательно, необходимы новые стандарты, которые учитывают не только возраст и пол, но и темпы соматического развития ребенка.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить особенности остеогенеза у девочек и девушек с различными темпами соматического развития и у девочек с задержкой роста, поскольку задержка роста может сопровождаться нарушением секреции гормонов и, как следствие, нарушением процессов остеогенеза.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Была проведена соматометрия и рентгенография костей кисти и дистального отдела предплечья 120 здоровых девочек в возрасте от 11 до 17 лет, а также 69 девочек в возрасте от 9 до 16 лет, наблюдавшихся на эндокринологическом отделении ДГМКЦ ВМТ им. К.А. Раухфуса г. Санкт-Петербурга. Для оценки задержки роста у детей был использован метод сигмальных отклонений. Рост ( $X$ ) с отклонением от средней величины ( $M$ ) в пределах  $\pm 1\delta$  учитывается как средний, от  $+1,1\delta$  до  $+2\delta$  или  $-1,1\delta$  до  $-2\delta$ , соответственно, как выше или ниже среднего, более  $+2\delta$  или менее  $-2\delta$  как высокий или низкий. Индивидуальную оценку физического развития проводили путем сопоставления антропометрических показателей ребенка с нормативами и стандартами, разработанными специально для данного региона.

Для получения рентгеновского изображения была использована стационарная рентгеновская установка РУМ-20М, РУМ-20 с УРИ (усилителем рентгеновского излучения). Рентгенологическое исследование проводилось с соблюдением правил противолучевой защиты. Оценка уровня скелетной зрелости и процессов остеогенеза производилась посред-

ством анализа рентгенограмм и визуального определения наличия или отсутствия точек окостенения и псевдоэпифизов в исследуемом отделе скелета. Наличие точки окостенения или псевдоэпифизов обозначалось знаком «+», отсутствие — знаком «-». Процессы синостозирования оценивались по основным фазам следующим образом: «+» — синостоз завершен; «+-» — наличие синостоза; «-» — синостоз отсутствует.

Анализ рентгенографических изображений основывался на визуальном определении наличия или отсутствия точек окостенения и синостозов в исследуемых отделах скелета.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ результатов исследования показателей физического развития и процессов остеогенеза выявил, что девочки исследуемой группы по показателям роста и веса более однородны по сравнению с мальчиками, а развитие скелета у них протекает более плавно.

Наиболее высокий темп процессов окостенения выявлен среди девочек акселерированного типа соматического развития в период с 11 до 16 лет. Практически у всех девочек этой группы гороховидная и сесамовидные кости в I пястно-фаланговом суставе определяются в возрасте 11 лет. Процесс синостозирования костей кисти завершен к 16 годам.

В группе девочек со средними росто-весовыми показателями процессы остеогенеза протекают с меньшей интенсивностью: только у половины девочек 11 лет данной группы (50%) выявлены сесамовидные кости I пястно-фалангового сустава. Завершение процессов синостозирования костей кисти наблюдается в 17-летнем возрасте.

В группе девочек с задержкой роста наблюдается неоднородность по уровню скелетной зрелости.

У большинства девочек с задержкой роста (78%) костный возраст отстает от паспортного. Соответствие уровня развития скелета паспортному возрасту определяется у 13% обследуемых детей. Обращает на себя внимание тот факт, что опережение паспортного возраста определяется среди девочек только в 9% случаев (рис. 1) [10].

Основные тенденции процессов синостозирования, наблюдаемые среди здоровых девочек, характерны и для девочек с задержкой роста. Наиболее рано, с 11,5 лет, начинается синостозирование среди девушек, костный возраст которых опережает паспортный (опережение составляет от 1,5 до 3 лет), и к 16 годам практически завершается. В этой группе детей выявляется наличие синостозов в пястных костях, в средних и концевых фалангах. У детей, костный возраст которых соответствовал паспортному, процессы синостозирования начинаются в 11,8–12,5 лет. Определяются синостозы I пястной кости и концевых фаланг. Наиболее поздно — в возрасте 14–15 лет — начинается синостозирование пястных костей у девочек, костный возраст которых отстает от паспортного. Важно отметить, что у части детей синостозирование в этом отделе кисти начиналось со II–V пястной кости, то есть синостоз I пястной кости отсутствовал.

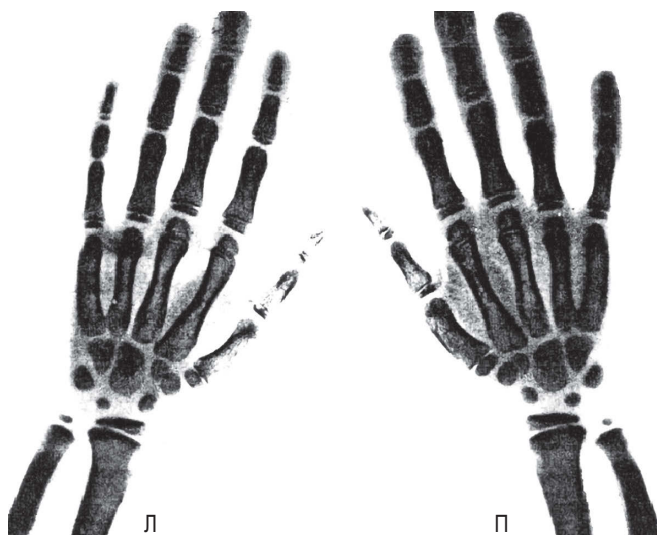


Рис. 1. Рентгенограмма костей кисти и дистального отдела предплечья девочки 5 лет с задержкой роста. Костный возраст соответствует 8 годам

Необходимо отметить, что у девочек с задержкой роста значительно чаще встречаются множественные, подчас несимметричные псевдоэпифизы I, II пястных костей (рис. 2) в возрасте 12–13 лет.

Выявлена также асимметрия точек окостенения и синостозов среди девочек с задержкой роста: в 30% случаев у девочек, костный возраст которых отстает от паспортного, у 12% девочек, костный возраст которых соответствует паспортному возрасту, и у 11% девочек, костный возраст которых опережает паспортный.

Процессы остеогенеза у девочек протекают без выраженных внутригрупповых различий, которые характерны для мальчиков [12, 13]. Тем не менее в ходе исследования выявлены общие тенденции: у девочек акселерированного типа процессы остеогенеза ускорены. В то же время среди девочек с низкими росто-весовыми показателями определяется заметное снижение темпов остеогенеза, причем у девочек с задержкой роста процессы остеогенеза протекают неравномерно, скачкообразно по сравнению со здоровыми сверстницами.

Можно предположить, что те случаи, когда выявляются псевдоэпифизы, асимметрия точек окостенения и синостозирования на фоне отставания уровня биологической зрелости, могут быть сопряжены с эндокринными нарушениями. Такие дети нуждаются в детальном обследовании, динамическом наблюдении и, возможно, медикаментозной коррекции. В остальных же случаях, по-видимому, имеет место проявление конституционально обусловленных темпов остеогенеза.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе описаны основные, конституционально обусловленные, варианты остеогенеза, соответствующие

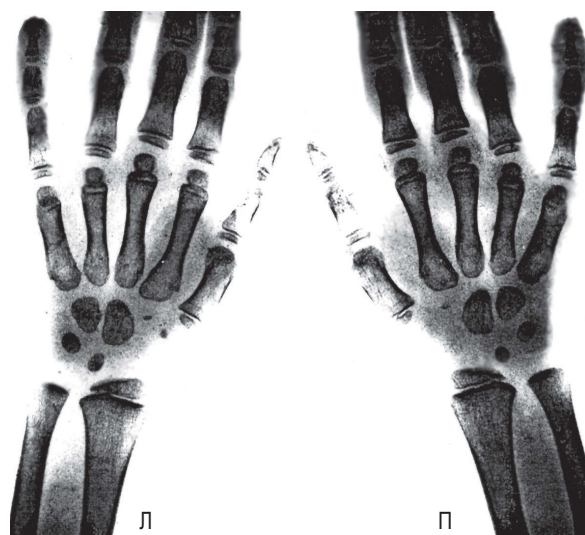


Рис. 2. Рентгенограмма костей кисти и дистального отдела предплечья девочки 7,5 лет с задержкой роста. Костный возраст соответствует 5–6 годам. Определяются псевдоэпифизы II, V пястных костей слева, асимметрия точек окостенения *os trapezium*, нарушение порядка появления точек окостенения *oss caphoideum et os trapezium*

акселерированному, среднему и ретардированному типам развития. Результаты исследования показывают, что ретардированный тип характерен как для здоровых девочек, так и для большинства девочек с задержкой роста. Это один из вариантов развития, которому свойственны описанные выше особенности остеогенеза. И в то же время такие нарушения дифференцировки скелета, как асимметрия процессов окостенения и синостозирования, псевдоэпифизы, особенно множественные и асимметричные, могут быть признаком эндокринного генеза задержки роста. Оценка уровня скелетной зрелости в таком случае имеет весьма высокое диагностическое значение, так как объективно отражает основные процессы роста и развития организма и позволяет обеспечить индивидуальный подход при наблюдении, обследовании и лечении детей.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство. М.: Медицина; 1990.
2. Агафонова Н.Н. Морфогенез костей кисти и дистального отдела предплечья у подростков в зависимости от их росто-весовых показателей. Автореф. ... дисс. канд. мед. наук. СПб.; 1997.
3. Алешина Е.И., Балаклеец Н.Р., Венин Н.Н. и др. Оценка основных антропометрических показателей и некоторых физиологических параметров у детей Северо-Запада. Методические рекомендации для врачей. 2-е изд. СПбГПМА; 2000.
4. Еркудов В.О., Пуговкин А.П., Волков А.Я. и др. Роль конституции человека в формировании дефицита и избытка массы тела

- у детей различного возраста. Педиатр. 2020; 11(2): 33–42. DOI: 10.17816/PED11233-42.
5. Еркудов В.О., Пуговкин А.П., Волков А.Я. и др. Сопоставительный анализ взаимоотношений длины тела и размеров внутренних органов у подростков. Педиатр. 2021; 12(2): 19–27. DOI: 10.17816/PED12219-27.
  6. Корнилов Н.В., Михайлов С.А., Малинин В.Л. Минеральная плотность костной ткани подростков и юношей в популяционной выборке Санкт-Петербурга и Ленинградской области. Остеопороз и остеопатии. 2003; 3: 6–9.
  7. Мартинчик А.Н., Батуринов А.К. Рост и масса детей России по данным поперечного исследования. Гигиена и санитария. 2000; 1: 68–71.
  8. Старкова Н.Т. Клиническая эндокринология. Руководство для врачей. СПб.; 2002.
  9. Туркина З.В., Швырина И.А. К вопросу о некоторых показателях физического развития детей 7–10 лет. Сборник научных трудов: Общая патология: на пороге третьего тысячелетия. Рязань; 2001: 74–5.
  10. Фарбер Д.А. и др. Физиология роста и развития детей и подростков. М.; 2000.
  11. Хисамутдинова А.Р., Карелина Н.Р. Остеогенез костей предплечья и кисти как надежный критерий определения биологического возраста. Российские биомедицинские исследования. 2017; 2(4): 42–7.
  12. Хисамутдинова А.Р., Карелина Н.Р. Особенности остеогенеза у здоровых мальчиков с разными соматометрическими характеристиками и у мальчиков с задержкой роста. Материалы научной конференции, посвященной 115-летию со дня рождения профессора М.Г. Привеса: Сборник научных трудов, Санкт-Петербург, 07 ноября 2019 года. СПб.: Научная книга; 2019: 226–9.
  13. Хисамутдинова А.Р., Комиссарова Е.Н. Темпы остеогенеза у мальчиков подростков под влиянием эндогенных и экзогенных факторов. Forcipe. 2020; 3(3): 36–40.
  14. Юрьев В.В., Симаходский А.С., Воронович Н.Н., Хомич М.М. Рост и развитие ребенка. Гос. педиатр. мед. акад., Каф. пропедевтики дет. болезней. СПб.: СПбГПМА; 2003.
  4. Yerkudov V.O., Pugovkin A.P., Volkov A.Ya. i dr. Rol' konstitutsii cheloveka v formirovaniy defitsita i izbytkha massy tela u detey razlichnogo vozrasta. [The role of the human constitution in the formation of deficiency and excess body weight in children of different ages]. Pediatr. 2020; 11(2): 33–42. DOI: 10.17816/PED11233-42 (in Russian)
  5. Yerkudov V.O., Pugovkin A.P., Volkov A.Ya. i dr. Sopostavitel'nyy analiz vzaimootnosheniy dliny tela i razmerov vnutrennikh organov u podrostkov. [Comparative analysis of the relationship between body length and size of internal organs in adolescents]. Pediatr. 2021; 12(2): 19–27. DOI: 10.17816/PED12219-27 (in Russian)
  6. Kornilov N.V., Mikhaylov S.A., Malinin B.L. Mineral'naya plotnost' kostnoy tkani podrostkov i yunoshey v populyatsionnoy vyborke Sankt-Peterburga i Leningradskoy oblasti. [Bone mineral density of adolescents and young men in the population sample of St. Petersburg and the Leningrad region]. Osteoporoz i osteopatii. 2003; 3: 6–9. (in Russian)
  7. Martinchik A.N., Baturin A.K. Rost i massa detey Rossii po dannym poperechnogo issledovaniya. [Height and weight of Russian children according to a cross-sectional study]. Gigiyena i sanitariya. 2000; 1: 68–71. (in Russian)
  8. Starkova N.T. Klinicheskaya endokrinologiya. [Clinical endocrinology]. Rukovodstvo dlya vrachey. Sankt-Peterburg; 2002. (in Russian)
  9. Turkina Z.V., Shvyrina I.A. K voprosu o nekotorykh pokazatelyakh fizicheskogo razvitiya detey 7–10 let. [On the issue of some indicators of physical development of children 7-10 years old]. Sbornik nauchnykh trudov: Obshchaya patologiya: na poroge tret'yego tysyacheletiya. Ryazan'; 2001: 74–5. (in Russian)
  10. Farber D.A. i dr. Fiziologiya rosta i razvitiya detey i podrostkov. [Physiology of growth and development of children and adolescents]. M.; 2000. (in Russian)
  11. Khisamutdinova A.R., Karelina N.R. Osteogenez kostey predplech'ya i kisti kak nadezhnyy kriteriy opredeleniya biologicheskogo vozrasta. [Osteogenesis of the bones of the forearm and hand as a reliable criterion for determining biological age]. Rossiyskiye biomeditsinskiye issledovaniya. 2017; 2(4): 42–7. (in Russian)
  12. Khisamutdinova A.R., Karelina N.R. Osobennosti osteogeneza u zdorovykh mal'chikov s raznymi somatometricheskimi kharakteristikami i u mal'chikov s zaderzhkoy rosta. [Features of osteogenesis in healthy boys with different somatometric characteristics and in boys with growth retardation]. Materialy nauchnoy konferentsii, posvyashchennoy 115-letiyu so dnya rozhdeniya profesora M.G. Privesa: Sbornik nauchnykh trudov, Sankt-Peterburg, 07 noyabrya 2019 goda. Sankt-Peterburg; Nauchnaya kniga Publ.; 2019: 226–9. (in Russian)
  13. Khisamutdinova A.R., Komissarova Ye.N. Tempy osteogeneza u mal'chikov podrostkov pod vliyaniem endogennykh i ekzogennykh faktorov. [The rates of osteogenesis in adolescent boys under the influence of endogenous and exogenous factors]. Forcipe. 2020; 3(3): 36–40. (in Russian)
  14. Yuryev V.V., Simakhodskiy A.S., Voronovich N.N., Khomich M.M. Rost i razvitiye rebenka. [The growth and development of the child]. Gos. pediater. med. akad., Kaf. propedevтики det. bolezney. Sankt-Peterburg; SPbGPMA; 2003. (in Russian)

## REFERENCES

1. Avtandilov G.G. Meditsinskaya morfometriya. [Medical morphometry]. Rukovodstvo. Moskva: Meditsina Publ.; 1990. (in Russian)
2. Agafonova H.H. Morfogenez kostey kisti i distal'nogo otdela predplech'ya u podrostkov v zavisimosti ot ikh rosto-vesovykh pokazateley. [Morphogenesis of the bones of the hand and the distal forearm in adolescents depending on their height and weight parameters]. Avtoref. diss. kand. med. nauk. Sankt-Peterburg; 1997. (in Russian)
3. Aleshina Ye.I., Balakleyets N.R., Venin N.N. i dr. Otsenka osnovnykh antropometricheskikh pokazateley i nekotorykh fiziologicheskikh parametrov u detey Severo-Zapada. [Assessment of the basic anthropometric indicators and some physiological parameters in children of the North-West]. Metodicheskiye rekomendatsii dlya vrachey. 2-ye izd. SPbGPMA; 2000. (in Russian)

## СИНДРОМ ПОСТКОВИДНЫХ НАРУШЕНИЙ И ЕГО ИММУНОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ. РОЛЬ АУТОИММУНИТЕТА

© Варвара Анатольевна Рябкова<sup>1</sup>, Наталия Юрьевна Гаврилова<sup>1</sup>, Дарья Кандук<sup>2</sup>,  
Леонид Павлович Чурилов<sup>1,3</sup>, Иегуда Шенфельд<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Лаборатория мозаики аутоиммунитета, Санкт-Петербургский государственный университет. Россия, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7–9

<sup>2</sup>Кафедра биологических наук, биотехнологий и биофармацевтики, Университет Бари, Италия, Piazza Umberto I, 1, 70121, Bari, Italy

<sup>3</sup>Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии. Россия, 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2–4

<sup>4</sup>Центр аутоиммунных заболеваний Заблудовича, Медицинский центр Шива, аффилированный с медицинским факультетом Тель-Авивского университета. Тель-Хашомер, Израиль, Дерех Шива 2, Рамат Ган

**Контактная информация:** Варвара Анатольевна Рябкова — студентка медицинского факультета, лаборант-исследователь.  
E-mail: varvara-ryabkova@yandex.ru

Поступила: 02.06.2021

Одобрена: 12.08.2021

Принята к печати: 17.09.2021

**Резюме:** Все больше данных свидетельствуют о тесной связи между инфекцией COVID-19 и аутоиммунитетом. Термин «затяжной/отсроченный постковидный синдром» был предложен для обозначения стойких симптомов или последствий, персистирующих/развившихся в течение более 4 недель с момента появления острых симптомов COVID-19. Недавний метаанализ показал, что у 80% пациентов, инфицированных SARS-CoV-2, развился один или несколько долговременных симптомов. Выявлены психоневрологические, ревматологические, респираторные, сердечно-сосудистые, желудочно-кишечные и эндокринные проявления затяжного/отсроченного постковидного синдрома. Было показано, что распространенность большинства симптомов не снизилась, а даже возросла через 7–9 месяцев по сравнению с ранним периодом после выздоровления от острой инфекции. Возможные патогенетические звенья, влияющие на развитие синдрома, включают: (1) прямую вирусную инвазию или персистенцию; (2) иммунологические нарушения и повреждения в исходе острого инфекционного воспаления; (3) ожидаемые последствия пребывания в критическом состоянии. Однако в большинстве случаев синдром пост-COVID-19 развился после нетяжелого течения острой инфекции COVID-19. Хотя нет никаких доказательств того, что какой-либо один механизм является общим для различных осложнений после COVID-19, можно предположить, что аутоантитела, которые обнаруживаются во время острого COVID-19, могут сохраняться и играть роль в развитии проявлений синдрома пост-COVID-19. Появление и прогрессирование симптомов в течение некоторого времени после разрешения острого COVID-19 подтверждает эту гипотезу. Распространенность нескольких патогенных аутоантител при остром COVID-19 сравнима с таковой при аутоиммунных заболеваниях. Некоторые аутоантитела сохраняются у таких пациентов не менее семи месяцев. Нами создан реестр пациентов с постострым синдромом COVID-19, который к апрелю 2021 года включает 81 случай. 77,8% этих пациентов — женщины. Средний возраст пациентов — 44 года (возрастной диапазон 11–77 лет). 79% пациентов не были госпитализированы во время острой инфекции (т.е. у них развился постострый синдром COVID-19 после легкой версии острого COVID-19). 74% пациентов отметили усталость/крайнюю усталость среди симптомов пост-COVID. В то время как 68% пациентов сообщили о симптомах постострого синдрома COVID-19 сразу после острой фазы инфекции, 38% испытали временное улучшение после острого COVID-19 до проявления постострых признаков COVID-19. Набор пациентов и анализ реестра продолжаются. Наш текущий исследовательский проект по постострому синдрому COVID-19 состоит из двух этапов. Первый этап участники могут пройти онлайн. Он включает в себя несколько анкетирований, онлайн-консультацию, компьютерную батарею нейропсихологических тестов и оценку физического состояния на основе некоторых функциональных маркеров, связанных с легочной и сердечно-сосудистой системами. Второй этап в Санкт-Петербурге предусматривает использование нескольких методов для оценки состояния тонких нервных волокон, микроциркуляции, профиля аутоиммунитета, функции вегетативной нервной

системы, периферического слуха и центрального звена слухового анализатора. Обосновывается растущая необходимость специализированного центра динамического наблюдения и реабилитации пациентов с пост-COVID, выполняющего также трансляционно-медицинские научные задачи.

**Ключевые слова:** COVID-19; аутоиммунитет; постковидный синдром; патогенез; лечение; реабилитация.

## POST-COVID SYNDROME AND ITS IMMUNOPATHOLOGICAL MECHANISMS. THE ROLE OF AUTOIMMUNITY

© Varvara A. Ryabkova<sup>1</sup>, Natalia Yu. Gavrilova<sup>1</sup>, Darja Kanduc<sup>2</sup>, Leonid P. Churilov<sup>1,3</sup>, Yehuda Shoenfeld<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of the Mosaics of Autoimmunity, Saint-Petersburg State University. Russia, 199034, Saint-Petersburg, Universitetskaya nab., 7–9

<sup>2</sup> Department of Biosciences, Biotechnologies, and Biopharmaceutics, University of Bari. Italy, Piazza Umberto I, 1, 70121, Bari, Italy

<sup>3</sup> Saint-Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology. Russia, 191036, Saint-Petersburg, Ligovsky pr., 2–4

<sup>4</sup> Zabudowicz Center for Autoimmune Diseases, Sheba Medical Center, Tel-Aviv University School of Medicine. Tel-Hashomer, Israel, Derech Sheba 2, Ramat Gan

**Contact information:** Varvara A. Ryabkova — MD-student, Laboratory Assistant. E-mail: varvara-ryabkova@yandex.ru

**Received:** 02.06.2021

**Revised:** 12.08.2021

**Accepted:** 17.09.2021

**Abstract:** Increasing evidence suggests a strong association between the COVID-19 infection and autoimmunity. A term “post-acute COVID-19 syndrome” has been coined for the persistence of symptoms or development of sequelae beyond 4 weeks from the onset of acute symptoms of COVID-19. Recent meta-analysis revealed that 80% of the patients that were infected with SARS-CoV-2 developed one or more long-term symptoms. The neuropsychiatric, rheumatic, respiratory, cardiovascular, gastrointestinal, and endocrine manifestations were identified. It was shown that prevalence of the most symptoms have even risen in 7-9 months compared to the early recovery period. Potential mechanistic links contributing to the pathophysiology of postacute COVID-19 include: (1) direct viral invasion or persistence; (2) immunologic aberrations and inflammatory damage in outcome of acute infection; and (3) expected sequelae of post-critical illness. However, most cases of post-COVID-19 syndrome developed after non-severe COVID-19. While there is no evidence to put any single mechanism as common one for different post-COVID-19 complications, it can be suggested that autoantibodies, which are detected during acute COVID-19 can persist and play a role in the development of post-COVID-19 manifestations. The appearance and progression of symptoms for some time after resolution of acute COVID-19 favors this hypothesis. The prevalence of several pathogenic autoantibodies in acute COVID-19 is comparable to that in autoimmune diseases. Some autoantibodies persist in such patients at least for seven months. We established a patient registry of post-acute COVID-19 syndrome which includes 81 cases by April, 2021. 77,8% of these patients are women. The mean age of patients is 44 years old (age range 11–77 years). 79% of patients have not been hospitalized during acute infection (i.e. have developed post-acute COVID-19 syndrome following mild version of acute COVID-19). 74% of patients reported fatigue/extreme tiredness among their post-COVID symptoms. While 68% of patients have reported the symptoms of post-acute COVID-19 syndrome immediately after the acute phase of infection, 38% experienced temporary improvement after acute COVID-19 before the manifestation of post-acute COVID-19 signs. The enrollment of patients and the analysis of the registry is continuing. Our current research project on the post-acute-COVID-19 syndrome consist of two phases. The first phase can be passed online by the participants. It includes several questionnaires, online consultation, computer-based battery of neuropsychological tests and assessment of physical status based on some functional markers related to the pulmonary and cardiovascular system. The second phase can be conducted at outpatient clinic, using several methods to assess status of small nerve fibers, microcirculation, autoimmunity profile, autonomic nervous system function, peripheral hearing, and central auditory processing. The growing necessity in specialized center for the follow-up, dynamic observation and rehabilitation of post-COVID patients is substantiated (intermingled with its translational biomedical research functions).

**Key words:** COVID-19; autoimmunity; post-COVID syndrome; pathogenesis; treatment; rehabilitation.



The immune response to SARS-CoV-2 appears to play a critical role in the disease pathogenesis and clinical manifestations. SARS-CoV-2 not only activates antiviral immune responses but can also cause excessive systemic action of pro-inflammatory mediators including cytokine release in patients with severe COVID-19, accompanied by lymphopenia, lymphocyte dysfunction, and granulocyte and monocyte abnormalities [1]. These SARS-CoV-2-induced immune abnormalities may result in the development of complicated infections by other microorganisms, severe multiple organ hypoperfusion, hypoxia and dysfunction and sometimes death.

Increasing evidence accumulated from the past year suggesting a strong association between the COVID-19 infection and autoimmunity. The reported inflammatory/autoimmune-related symptoms by patients, the appearance of circulating autoantibodies and the diagnosis of defined diverse autoimmune diseases in a subgroup of SARS-CoV-2-infected patients indicate the critical and pivotal effect of SARS-CoV-2 virus on human immunity, and its capability to trigger autoimmune disorders, in genetically predispose subjects [2].

Last year clinicians and scientist focused on the diagnosing and management of acute COVID-19. More recently, data have emerged that some patients continue to experience symptoms related to COVID-19 after the acute phase of infection. There is currently no clearly delineated consensus definition for the condition: terminology has included “long COVID”, “post-COVID syndrome” and “post-acute COVID-19 syndrome”. Among the lay public, the phrase “long haulers” is also being used. While the definition of the post-acute COVID-19 is evolving, it has been suggested to include persistence of symptoms or development of sequelae beyond 4 weeks from the onset of acute symptoms of COVID-19 [3].

Based on recent literature, it is further divided into two categories: (1) subacute or ongoing symptomatic COVID-19, which includes symptoms and abnormalities present from 4–12 weeks beyond acute COVID-19; and (2) chronic or post-COVID-19 syndrome, which includes symptoms and abnormalities persisting or present beyond 12 weeks of the onset of acute COVID-19 and not attributable to alternative diagnoses [3].

Recent meta-analysis (which includes 18,251 publications and 47,910 patients) revealed that 80% of the patients that were infected with SARS-CoV-2 developed one or more long-term symptoms [4]. Neuropsychiatric, rheumatic respiratory, cardiovascular, gastrointestinal and endocrine manifestations were identified and the five most common symptoms were fatigue (58%), headache (44%), attention disorder (27%), hair loss (25%), and dyspnea (24%).

One important question is whether post-COVID-19 sequela successfully resolve with time or persist (at least in a subgroup of patients). Peluso et al. showed that more than 40% of patients still reported fatigue in 7–9 months after acute COVID-19 resolution and prevalence of the most symptoms including trouble sleeping, concentration problems, fatigue, joint pain, back pain, nausea, dizziness, vision problems, cough, palpitations, diarrhea, rash and menstrual cramps have even risen in 7–9 months compared to the early recovery period (3–10 weeks) [5].

Potential mechanisms contributing to the pathophysiology of post-acute COVID-19 include: (1) direct viral invasion or persistence; (2) immunologic aberrations and inflammatory damage in response to the acute infection; and (3) expected sequelae of post-critical illness [3]. While the latter is well-recognized, most cases of post-COVID-19 developed after non severe COVID-19.

While there is no evidence for any hypothesis of post-COVID-19 syndrome's pathogenesis, it can be suggested that autoantibodies, which are detected during acute COVID-19 can persist and play a role in the development of post-COVID-19 manifestations. The appearance and progression of symptoms some time after resolution of acute COVID-19 (see above) favors this hypothesis.

The prevalence of several pathogenic autoantibodies in acute COVID-19 is comparable to that in autoimmune diseases [6]. However, it is well-known that the titers of different autoantibodies increase during acute period of infectious disease. In a small study of nine COVID-19 patients published Jan. 25 2021 in the preprint server *medRxiv*, five had autoantibodies for at least seven months [7]. Interestingly, that autoantibodies were detected in 5/5 patients with reported persistent symptoms and 2/4 without continued symptoms.

In a preprint article Wang et al. used a novel high-throughput assay to quantitate circulating antibodies against 2,770 human proteins in individuals infected with SARS-CoV-2 and control subjects [8]. More proteins were targeted in infected individuals, and patients with severe COVID-19 exhibiting higher-level reactivity to the greatest number of antigens. Notably, autoantibody reactivities found in patients with COVID-19 included many that targeted immune-relevant proteins such as cytokines (for example, type I interferons), chemokines or their receptors, as well as particular leukocyte subsets (B cells, T cells, natural killer cells and monocytes). These antibodies had immunomodulatory effects *in vitro* and were associated with virological and immune parameters *in vivo*. Immune-targeting autoantibodies exacerbate disease severity in a mouse model of SARS-CoV-2 infection. If such autoantibodies persist, they can be partly responsible for the development of post-COVID-19 syndrome.

We established a patient registry of post-acute COVID-19 syndrome on 2/04/21 and as at 18/04/21 it includes 81 patients. 77,8% of patients are women. The mean age of patients is 44 years old (age range 11–77 years). 79% of patients have not been hospitalized during acute infection (i.e. have developed post-acute COVID-19 syndrome following mild acute COVID-19). 74% of patients reported fatigue/extreme tiredness among their symptoms. While 68% of patients have reported the symptoms of post-acute COVID-19 syndrome immediately after the acute phase of infection, 38% of patients experienced temporary improvement after acute COVID-19 before the manifestation of post-acute COVID-19 syndrome. The enrollment of patients and the analysis of the registry is continuing.

Our current research project on the post-acute-COVID-19 syndrome consist of two phases. The first phase can be passed online by the participants. It includes several questionnaires, online

## Modalities of therapy

### Dependent on the multisystem investigation:

- intravenous immunoglobulin;
- efferent therapy (plasmapheresis and immunoadsorption);
- vitamins D and C;
- anti-H1 and anti-H2 antihistamines;
- anticoagulants;
- ivermectin;
- breathing exercises;
- intravenous laser blood irradiation, ozone therapy;
- acupuncture;
- olfactory training;
- correction of liver dysfunction;
- antihypertensive therapy;
- antidepressants (SNRIs, tricyclics);
- cough suppressants;
- beta-1-blockers/beta-2 agonists for autonomic nervous system dysfunction;
- correction of the hormonal status (prolactin inhibitors, euthyroid achievement, corticosteroids in case of autoimmune/autoinflammatory phenomena);
- complex treatment of polyneuropathy;
- metronidazole and probiotics in case of secondary colitis/dysbiosis;
- complex treatment of chronic fatigue syndrome (sleep medications, pain medications, drugs to treat orthostatic intolerance and drugs for cognitive dysfunction, pentoxifylline, CoQ10 + NADH, L-carnitine, quercetin, epigallocatechin, curcumin, saffron, Astragali Radix and Salviae Miltiorrhizae Radix, Andrographis, metformin, PPAR agonists, isoprinosine, hydroxychloroquine, low-dose naltrexone);
- biofeedback, cognitive behavioral therapy (CBT), graded exercise therapy (GET), and adaptive pacing therapy (APT);
- COVID-19 vaccination

### Bench-to-bedside approach



Fig. 1. Suggested treatment modalities in long COVID syndrome/post-COVID complications

consultation, computer-based battery of neuropsychological tests and assessment of physical status based on some functional markers related to the pulmonary and cardiovascular system. The second phase can be conducted in Saint Petersburg. We have several methods to assess small nerve fibers, microcirculation, autoimmunity profile, autonomic nervous system function, peripheral hearing, and central auditory processing.

Even if the number of COVID-19 cases worldwide will tend to decrease, the incidence of post-COVID complaints and complications will nevertheless grow up substantially in the close perspective. That's why it is necessary to establish specialized multidisciplinary centers for medical aid to post-COVID patients (both as regards to somatic and psychic complaints) in order to organize appropriate dynamic observation, regular check-ups of their health status and rehabilitation combining it with translational research for the comprehension of post-COVID syndrome clinical pathophysiology. Several possible ways of immunomodulation and other treatment may be involved (Figure 1).

It can be achieved at outpatient clinics with stationary facilities for short staying, multisystem investigation and one-day efferent therapy [9], best of all — settled within university hospitals and/or high-tech medical centers. Several proposals of this kind are already coined and discussed elsewhere [9–11].

### FUNDING

This work is supported by the grant of the Government of the Russian Federation for the state support of scientific research

carried out under the supervision of leading scientists, agreement 14.W03.31.0009.

### REFERENCES

1. Yang L., Liu S., Liu J. et al. COVID-19: immunopathogenesis and Immunotherapeutics, *Signal Transduct. Target. Ther.* 2020; 5: 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00243-2>.
2. Halpert G., Shoenfeld Y. SARS-CoV-2, the autoimmune virus, *Autoimmun. Rev.* 2020; 19: 102695. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2020.102695>.
3. Nalbandian A., Sehgal K., Gupta A. et al. Post-acute COVID-19 syndrome, *Nat. Med.* 2021; 27: 601–15. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01283-z>.
4. Lopez-Leon S., Wegman-Ostrosky T., Perelman C. et al. More than 50 Long-term effects of COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *medRxiv [Preprint]*. 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.01.27.21250617>.
5. Peluso M.J., Kelly J.D., Lu S. et al. Rapid implementation of a cohort for the study of post-acute sequelae of SARS-CoV-2 infection/ COVID-19. *medRxiv [Preprint]*. 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.03.11.21252311>.
6. Wei Gao Z., Zhong Zhang H., Liu C., Dong K. Autoantibodies in COVID-19: frequency and function, *Autoimmun. Rev.* 2021; 21: 102754. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2021.102754>.
7. Bhadelia N., Belkina A.C., Olson A. et al. Distinct Autoimmune Antibody Signatures Between Hospitalized Acute COVID-19 Patients, SARS-CoV-2 Convalescent Individuals, and Unexposed Pre-Pan-

- demic Controls. medRxiv [Preprint]. 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.01.21.21249176>.
8. Wang E.Y., Mao T., Klein J. et al. Diverse Functional Autoantibodies in Patients with COVID-19. *Nature*. 2021 May 19. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03631-y>. Epub ahead of print.
  9. Ladds E., Rushforth A., Wieringa S. et al. Developing services for long COVID: lessons from a study of wounded healers. *Clin Med (Lond)*. 2021; 21: 59–65. <https://doi.org/10.7861/clinmed.2020-0962>. Erratum in: *Clin Med (Lond)*. 2021; 21(2):160.
  10. Raza M.A., Aziz S., Shahzad S., Raza S.M. Post-COVID Recovery Assessment Clinics: A Real Need of Time. *Innov Pharm*. 2021; 12: 10.24926/iip.v12i1.3693. <https://doi.org/10.24926/iip.v12i1.3693>.
  11. Gainetdinov R.R., Bornstein S. Update on Management of COVID-19 and Post COVID-19. Proceedings of the XXIV International Biomedical Conference of Young Researchers “Fundamental Science and Clinical Medicine. Homo and Health” 24 April 2021, Saint Petersburg State University. *Fundam. Nauka & Clin. Med*. 2021; 24: 952.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Yang L., Liu S., Liu J. et al. COVID-19: immunopathogenesis and Immunotherapeutics, *Signal Transduct. Target. Ther*. 2020; 5: 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00243-2>.
2. Halpert G., Shoenfeld Y. SARS-CoV-2, the autoimmune virus, *Autoimmun. Rev*. 2020; 19: 102695. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2020.102695>.
3. Nalbandian A., Sehgal K., Gupta A. et al. Post-acute COVID-19 syndrome, *Nat. Med*. 2021; 27: 601–15. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01283-z>.
4. Lopez-Leon S., Wegman-Ostrosky T., Perelman C. et al. More than 50 Long-term effects of COVID-19: a systematic review and meta-analysis. medRxiv [Preprint]. 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.01.27.21250617>.
5. Peluso M.J., Kelly J.D., Lu S. et al. Rapid implementation of a cohort for the study of post-acute sequelae of SARS-CoV-2 infection/COVID-19. medRxiv [Preprint]. 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.03.11.21252311>.
6. Wei Gao Z., Zhong Zhang H., Liu C., Dong K. Autoantibodies in COVID-19: frequency and function, *Autoimmun. Rev*. 2021; 21: 102754. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2021.102754>.
7. Bhadelia N., Belkina A.C., Olson A. et al. Distinct Autoimmune Antibody Signatures Between Hospitalized Acute COVID-19 Patients, SARS-CoV-2 Convalescent Individuals, and Unexposed Pre-Pandemic Controls. medRxiv [Preprint]. 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.01.21.21249176>.
8. Wang E.Y., Mao T., Klein J. et al. Diverse Functional Autoantibodies in Patients with COVID-19. *Nature*. 2021 May 19. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03631-y>. Epub ahead of print.
9. Ladds E., Rushforth A., Wieringa S. et al. Developing services for long COVID: lessons from a study of wounded healers. *Clin Med (Lond)*. 2021; 21: 59–65. <https://doi.org/10.7861/clinmed.2020-0962>. Erratum in: *Clin Med (Lond)*. 2021; 21(2):160.
10. Raza M.A., Aziz S., Shahzad S., Raza S.M. Post-COVID Recovery Assessment Clinics: A Real Need of Time. *Innov Pharm*. 2021; 12: 10.24926/iip.v12i1.3693. <https://doi.org/10.24926/iip.v12i1.3693>.
11. Gainetdinov R.R., Bornstein S. Update on Management of COVID-19 and Post COVID-19. Proceedings of the XXIV International Biomedical Conference of Young Researchers “Fundamental Science and Clinical Medicine. Homo and Health” 24 April 2021, Saint Petersburg State University. *Fundam. Nauka & Clin. Med*. 2021; 24: 952.

## РОЛЬ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА В ПАТОГЕНЕЗЕ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

© Михаил Сергеевич Некрасов<sup>1</sup>, Илья Олегович Ищенко<sup>1</sup>, Владислав Борисович Царакаев<sup>1</sup>, Алина Денисовна Мочалова<sup>1</sup>, Альбина Сергеевна Могилева<sup>1</sup>, Татьяна Викторовна Брус<sup>1</sup>, Анна Валентиновна Васильева<sup>1</sup>, Андрей Андреевич Лебедев<sup>2, 3, 4</sup>, Сарнг Саналович Пюрвеев<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет. 194100, Санкт-Петербург, Литовская ул., д. 2

<sup>2</sup> Институт экспериментальной медицины. 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12

<sup>3</sup> Санкт-Петербургский государственный институт психологии и социальной работы. 199178, Санкт-Петербург, 12-я линия В.О., д. 13, лит. А

<sup>4</sup> Санкт-Петербургский университет технологий управления и экономики. 190103, Санкт-Петербург, Лермонтовский пр., д. 44

**Контактная информация:** Сарнг Саналович Пюрвеев — ст. лаборант кафедры патологической физиологии с курсом иммунопатологии. E-mail: dr.purveev@gmail.com

Поступила: 02.06.2021

Одобрена: 12.08.2021

Принята к печати: 17.09.2021

**Резюме:** Болезнь Паркинсона (БП) — экстрапирамидный хронический патологический процесс со специфическими двигательными нарушениями, комплексом немоторных расстройств, сопровождающийся изменением нормальной динамики суточных колебаний большинства физиологических процессов в организме. Особая роль уделяется взаимосвязи микробиота–кишечник–мозг: как связаны между собой микрофлора, материал фекальной трансплантации, энтеральная нервная система и черная субстанция головного мозга. Цель — исследовать роль кишечной микробиоты в патогенезе БП на экспериментальной модели для сравнительного анализа различных подходов терапии. В работе использовали 40 половозрелых крыс (4 экспериментальные группы): 1 — «Контроль» (n=10); 2 — «Ротенон» (n=10); 3 — «Ротенон+амантадин» (n=10); 4 — «Ротенон+микробиота» (n=10). Для подтверждения моторных нарушений «ротеноновых крыс» тестировали на установках «Открытое поле» и «Брусья». В качестве лекарственной терапии был выбран препарат амантадин. Соответствующей группе производилась трансплантация фекальной микробиоты. По результатам тестов «Открытое поле» и «Брусья» у тестируемых животных наблюдалось значительное увеличение вертикальных стоек и количество актов принюхивания, что может говорить об улучшении двигательной активности. В тесте «Брусья» у тестируемых животных, подвергшихся трансплантации микробиоты, наблюдается более длительное удержание на шестах в отличие от крыс с ротеноновой БП. Таким образом, используемые поведенческие тесты говорят об улучшении нервно-мышечной координации и двигательной активности у крыс, подвергшихся трансплантации микробиоты по сравнению с группой с ротеноновой БП без трансплантации микробиоты.

**Ключевые слова:** болезнь Паркинсона; трансплантация фекальной микробиоты; ротенон; моделирование; экспериментальные животные; терапия паркинсонизма; тестирование; «Открытое поле»; «Брусья»;  $\alpha$ -синуклеин; амантадин.

## THE ROLE OF INTESTINAL MICROBIOTA IN PARKINSON'S DISEASE PATHOGENESIS (EXPERIMENTAL STUDY)

© Mikhail S. Nekrasov<sup>1</sup>, Ilya O. Ishchenko<sup>1</sup>, Vladislav B. Tsarakaev<sup>1</sup>, Alina D. Mochalova<sup>1</sup>, Albina S. Mogileva<sup>1</sup>, Tatyana V. Brus<sup>1</sup>, Anna V. Vasilyeva<sup>1</sup>, Andrey A. Lebedev<sup>2, 3, 4</sup>, Sarng S. Pyurveev<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> Saint-Petersburg State Pediatric Medical University. 194100, Saint-Petersburg, Litovskaya str., 2

<sup>2</sup> Institute for Experimental Medicine. 197376, Saint-Petersburg, st. Academician Pavlova, 12

<sup>3</sup> Saint-Petersburg State Institute of Psychology and Social Work. 199178, Saint-Petersburg, 12th line V.O., 13, lit. A

<sup>4</sup> Saint-Petersburg University of Management Technologies and Economics. 190103, Saint-Petersburg, Lermontovsky pr., 44

**Contact information:** Sarng S. Pyurveev — Senior Assistant Department of pathological physiology with immunopathology course. E-mail: dr.purveev@gmail.com

Received: 02.06.2021

Revised: 12.08.2021

Accepted: 17.09.2021

**Abstract:** Parkinson's disease (PD) is an extrapyramidal chronopathological process with specific motor disorders and non-motor disorders complex accompanied by the change of normal dynamics of daily range of the majority of physiological processes in the organism. A special attention is given to the interrelation between microbiota-intestines-brain: the way microflora, faecal transplantation material, enteral nervous system and the brain black substance are connected with each other. Objective of the current study is modelling of Parkinson's disease in experimental animals to make a subsequent comparative analysis of various approaches to anti-Parkinson's disease therapies. The study involved 40 mature rats of the line divided into 4 experimental groups: 1 — "Control" (n=10); 2 — "Rotenone" (n=10); 3 — "Rotenone+amantadine" (n=10); 4 — "Rotenone+microbiota" (n=10). To confirm motor disorders the rotenone rats were tested by the programs "Open field" and "Bars". Amantadine was chosen as a medical therapy due to its availability and effectiveness. Moreover, transplantation of faecal microbiota to experimental animals has not a small value in the treatment of Parkinson's disease. According to the results of "Open field" and "Bars" tests the examined animals presented significant increase of upright postures and number of sniffing actions, and these indicators characterize motor activity of the experimental animals that could confirm the improvement of motor symptomatology. According to the test "Bars" we also observed that the examined animals undergone microbiota transplantations were characterized by a longer keeping on poles to be compared with the rats with rotenone Parkinson's disease. Thus, it is possible to make a conclusion that behaviour tests used by us can prove the improvement of nervous-muscular coordination and motor activity in the rats undergone microbiota transplantations in comparison with the group with rotenone Parkinson's disease.

**Key words:** Parkinson's disease; transplantation of faecal microboats; rotenone; modeling; experimental animals; therapy of Parkinson's disease; testing; "Open field"; "Bars";  $\alpha$ -synuclein; amantadine.

## ВВЕДЕНИЕ

Среди нейродегенеративных патологий по частоте встречаемости болезнь Паркинсона (БП) занимает второе место после болезни Альцгеймера (БА). Стремительное старение населения в странах с постиндустриальным типом экономики ставит проблему нейродегенеративных заболеваний одной из ведущих для общественного здоровья. Такие заболевания ведут к потере трудоспособности, а также высокой смертности, инвалидизации и приводят к значительным расходам на их терапию [1, 2, 6, 7, 10, 17].

В настоящее время диагноз БП по МКБ-10 ставится только на основании клинических признаков, поскольку не существует специфических инструментальных и лабораторных маркеров данного заболевания. В связи с этим крайне необходима высококвалифицированная подготовка врачей-неврологов в диагностике БП. В мире данная патология выявлена примерно у 5 млн человек, причем есть прямая зависимость по возрастному показателю: у людей старше 60 лет частота встречаемости заболевания равна 1%, в то время как у лиц старше 80 лет — 4%. В России статистические показатели БП варьируют в зависимости от региона. Наиболее обобщенным и признанным является критерий 120–180 человек на 100 000 населения. В абсолютных значениях в Российской Федерации БП страдает около 210 000 больных [2, 10, 14].

Одна из концепций патогенеза БП фокусируется на образовании  $\alpha$ -синуклеина. Накопление этого нейронального белка в нейронах черной субстанции головного мозга приводит к образованию специфичного морфологического маркера БП — так называемых телец Леви [1–3, 9]. Так, например,

тельца Леви присутствуют в 72–100% биоптатов кишечника пациентов, страдающих болезнью Паркинсона, а 62% этих больных имеют фосфорилированный  $\alpha$ -синуклеин, который заметно выше, чем у соматически здорового населения (0–33% имеют  $\alpha$ -синуклеин) [10, 21, 27].

Чаще всего двигательным расстройствам при паркинсонизме предшествуют немоторные симптомы, такие как депрессия, аносмия, бессонница, а также ряд симптомов со стороны желудочно-кишечного тракта [4, 5, 10, 12, 14–16]. Согласно данным, полученным датскими исследователями в 2017 году, гастроэнтерологические симптомы могут предшествовать двигательным расстройствам более чем на 10 лет и включают проблемы с моторикой желудочно-кишечного тракта, воспаление толстой кишки и запоры (50–80%) [3, 4, 25]. Фактически запор связан с увеличением риска развития БП в 2,7–4,5 раза [10, 14, 15, 22].

У пациентов с БП наблюдается повышенная кишечная проницаемость, связанная с накоплением в кишечнике включений  $\alpha$ -синуклеина. Это способствует локальному воспалению, усугубляя дисфункцию кишечника при клинической и доклинической болезни Паркинсона [2, 5, 7, 18, 19, 23].

Предполагается, что повышенная кишечная проницаемость, транслокация бактерий и токсических продуктов их жизнедеятельности могут приводить к воспалению и окислительному стрессу в желудочно-кишечном тракте и тем самым также запускать процесс накопления  $\alpha$ -синуклеина. Таким образом, можно предположить формирование порочного круга [3, 18, 23, 25].

Ключевую роль отводят нейровоспалению, которое может начаться за пределами центральной нервной системы (ЦНС),

а именно в энтеральной нервной системе (ЭНС). Аномально образованный  $\alpha$ -синуклеин, в строении которого появляется  $\beta$ -складчатая структура, обнаруживается в дофаминергических структурах мозга [1, 2, 6].

Учитывая малую изученность фундаментальных закономерностей развития БП и высокую частоту встречаемости среди нейродегенеративных заболеваний, очень важен поиск и разработка новых эффективных методов фармакологической терапии, а также модификация уже существующих методов для достижения наиболее положительного эффекта в терапии паркинсонизма [2, 7, 8, 11, 14, 26, 27, 30].

На сегодняшний день этиология болезни Паркинсона остается до конца неясной, существуют многочисленные теории влияния того или иного фактора на развитие нейродегенеративных изменений, приводящих к клиническим проявлениям паркинсонизма [14, 23]. Тем не менее одна из рассмотренных в нашем исследовании теорий предполагает связь между осью микробиота–кишечник–мозг [13, 24–26, 28].

## ЦЕЛЬ

Исследовать роль кишечной микробиоты в патогенезе болезни Паркинсона на экспериментальной модели для сравнительного анализа различных подходов противопаркинсонической терапии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Животные:** эксперименты проводили в соответствии с международными европейскими биоэтическими стандартами (86/609-ЕЕС) и российскими этическими стандартами по содержанию и обращению с лабораторными животными.

В работе использовали 40 половозрелых крыс линии Wistar массой 180–220 г, полученных из питомника Рапполово РАМН (Ленинградская область). Животных содержали в стандартных пластмассовых клетках в условиях вивария при свободном доступе к пище в условиях инвертированного света 8.00–20.00 при температуре  $22 \pm 2$  °С. Все опыты проведены в осенне-зимний период. Подопытные крысы после поступления из специализированного питомника с целью выявления и исключения из исследования животных с инфекционной и/или соматической патологией, проходили двухнедельный период карантина в соответствующем блоке вивария. После

завершения периода карантина предусматривался дополнительный (1 сутки) период адаптации животных к основному помещению вивария.

Крысы содержались по 4–5 особей в клетке. Доступ к пище и еде свободный. Выведение животных из эксперимента производилось их декапитацией.

**Дизайн исследования:** рандомизация экспериментальных животных осуществлялась при помощи метода случайных чисел. Каждой крысе, участвующей в исследовании, присваивался индивидуальный номер. Случайным образом компьютерная программа отбирала из общей группы животных, количество которых соответствует объему выборки, и номера, в соответствии с которыми распределяли крыс по группам и клеткам. Моделирование БП у экспериментальных животных производилось при помощи ротенона — пестицида липофильной природы, легко проникающего через гематоэнцефалический барьер. Ротенон растворяли в смеси DMSO при добавлении миглиола 812N в соотношении 2:98 с концентрацией 2,3 мг/мл. Ежедневно в течение 19 дней вводили внутривентриально 0,2 мл раствора ротенона, с расчетом 2,3 мг/кг на одно животное [1, 2, 8].

В эксперименте использовали 4 группы крыс породы Wistar:

1. «Контроль» (n=10) — интактные, здоровые крысы, получавшие физиологический раствор натрия хлорида п/к и участвовавшие в проводимых каждые 7 дней тестах в соответствии со схемой моделирования БП.
2. «Ротенон» (n=10) — крысы, которые получали ротенон по схеме моделирования БП.
3. «Ротенон+микробиота» (n=10) — крысы, получавшие ротенон для моделирования БП и прошедшие противопаркинсоническую терапию с помощью трансплантации фекальной микробиоты (ТФМ) в течение последующих двух недель после моделирования БП с подтверждением данной патологии за счет анализа неврологического статуса и оценочных тестов.
4. «Ротенон+амантадин» (n=10) — крысы, у которых в отличие от предыдущей группы в качестве лечения БП был выбран препарат амантадин в дозировке 0,1 мг/кг. Сроки моделирования БП и лечения заболевания соответствуют срокам у исследуемой группы «ротенон+микробиота».



Рис. 1. Дизайн исследования

Все экспериментальные животные, задействованные в эксперименте, прошли контрольные тесты, проведенные на 20-й день опыта: 3 группы крыс — для доказательства сформировавшегося у них паркинсонизма. Группа «Контроль» также прошла доказательные тесты на 20-й день эксперимента с целью сравнения с паркинсоническими крысами. Группы «Ротенон+микробиота» и «Ротенон+амантадин» прошли повторное тестирование на 36-й день опыта для сравнения результатов противопаркинсонической терапии. Контрольные тесты — «Открытое поле» и «Брусья».

Установка «Открытое поле» (ОО «НПК Открытая Наука», Россия) — круглая, белого цвета, сделана из поливинилхлорида (ПВХ), модифицирует арену для крыс, которая снабжена петлями для временного крепления на стене. При нахождении каждого животного в установке «Открытое поле» по-отдельности записывалось пятиминутное видео с целью последующей оценки поведения крыс.

Установка «Брусья» представляет собой открытую коробку прямоугольной формы размером 40×30×10 см с двумя деревянными перекладинами белого цвета в центре. На данной установке каждая крыса ставилась на перекладины. Таким образом производилась оценка устойчивости животных. Даты проведения теста совпадают с датами исследования крыс в установке «Открытое поле».

**Трансплантация фекальной микробиоты:** клинически здоровых крыс помещали в чистую клетку со стерилизованной фильтровальной бумагой. Образцы кала были собраны сразу после дефекации в стерилизованную центрифужную пробирку. Фильтровальную бумагу заменяли для разных образцов крыс. Образцы фекалий хранились в морозильной камере при  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  до анализа и трансплантации. Микробиоту фекалий готовили путем разбавления 1 г образца фекалий в 10 мл стерильного физиологического раствора. Фекальный материал суспендировали и вводили 0,2 мл суспензии через зонд каждой крысе-реципиенту ежедневно в течение 16 дней [25, 30].

**Статистическая обработка результатов:** полученные в ходе работы данные проверены на нормальность распределения. Тип распределения определялся критерием Колмогорова–Смирнова, Шапиро–Уилка. Для сравнения значений использовался параметрический показатель — *t*-критерий Стьюдента, так как выборка соответствует закону нормального распределения. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Статистический анализ выполнен с помощью программ IBM SPSS Statistica 7.0 (StatSoft, USA) и Microsoft Office Excel 2016.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе работы нами были получены следующие результаты: в тесте «Открытое поле» проводили оценку спонтанной двигательной активности крыс. По сравнению с контролем у крыс, подвергшихся действию ротенона, сократилось количество передвижений, снизилась продолжительность исследовательского поведения и увеличилась длительность пери-

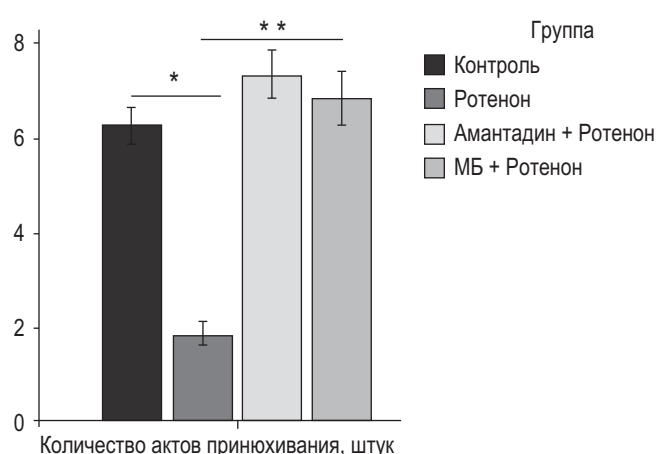


Рис. 2. Изменения исследовательской активности. Экспериментальные группы: 1 — «Контроль» ( $n=10$ ); 2 — «Ротенон» ( $n=10$ ); 3 — «Ротенон+амантадин» ( $n=10$ ); 4 — «Ротенон+микробиота» ( $n=10$ ). \* —  $p < 0,001$  по сравнению с контролем; \*\* —  $p < 0,001$  при сравнении с ротеноновой болезнью Паркинсона

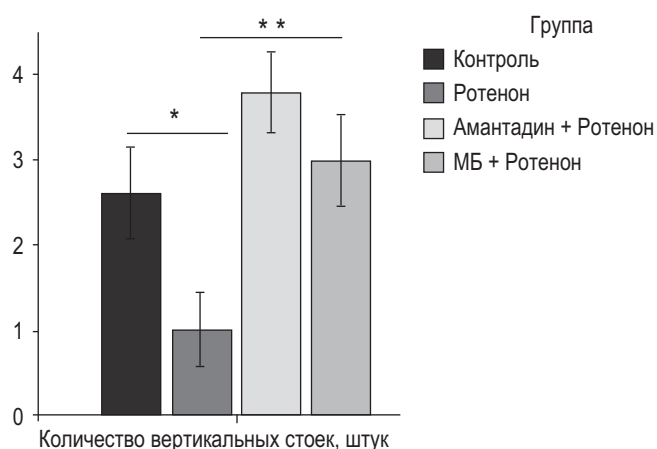


Рис. 3. Изменения вертикальной двигательной активности. Экспериментальные группы: 1 — «Контроль» ( $n=10$ ); 2 — «Ротенон» ( $n=10$ ); 3 — «Ротенон+амантадин»; 4 — «Ротенон+микробиота» ( $n=10$ ). \* —  $p < 0,03$  по сравнению с контролем, \*\* —  $p < 0,001$  при сравнении с ротеноновой болезнью Паркинсона

одов неподвижности ( $p < 0,05$ , рис. 2). В результате снижение связывания D2/3 рецепторов дофамина в nigrostriарной и мезолимбической областях приводит к уменьшению двигательной активности у крыс.

Лечение амантадином после моделирования ротенонового паркинсонизма увеличивало количество передвижений и исследовательского поведения ( $p < 0,001$ , рис. 2). Влияние трансплантации микробиоты крысам с паркинсонизмом также увеличивало количество передвижений и исследовательского поведения ( $p < 0,001$ , рис. 2). Никаких явных статистических различий между группой, получавшей терапию амантадином, и группой с трансплантацией микробиоты не наблюдалось.

Количество вертикальных стоек (рис. 3) было достоверно меньше после ротенона ( $p < 0,032$ ) относительно контрольных животных. После проведения терапии амантадином частота вертикальных стоек была увеличена относительно крыс с ротеноновой болезнью Паркинсона ( $p < 0,001$ ). Влияние трансплантации микробиоты также оказало положительное достоверное влияние на этот показатель. Трансплантация продемонстрировала увеличение вертикальных стоек ( $p < 0,008$ ) по сравнению с группой, получавшей ротенон без лечения.

При сравнении групп с терапией амантадином и крыс с трансплантацией микробиоты не было различий по данному параметру в тесте «Открытое поле».

Животные всех экспериментальных групп показали уменьшение общей частоты актов груминга (рис. 4) по сравнению с тем, что наблюдалось у крыс контрольной группы. Самая значительная разница наблюдалась с животными с ротеноновым паркинсонизмом ( $p < 0,001$ ). Однако и у групп, получавших терапию, мы не обнаружили значительного изменения частоты груминга по отношению к контрольным животным, тем не менее после лечения амантадином частота груминга немного увеличивалась по сравнению с ротеноновым паркинсонизмом ( $p < 0,0037$ ), но все же оставалась ниже значения, полученного у контроля. Животные с трансплантацией микробиоты, аналогично с группой амантадина, увеличивали частоту груминга ( $p < 0,0033$ ). Наблюдаемые эффекты могут быть связаны с повреждением дофаминовых нейронов черной субстанции головного мозга крыс, и, как следствие, со снижением общей двигательной активности.

Достоверная разница наблюдалась у группы крыс с трансплантацией микробиоты в сравнении с группой амантадина в количестве актов дефекации ( $p < 0,03$ ) (рис. 5). Кроме того, стул крыс после трансплантации микробиоты имел больший процент жидкости. Статистический анализ не выявил значи-

мых различий между группами с трансплантацией микробиоты, группой контроля и группой с ротеноновым паркинсонизмом ( $p > 0,05$ ).

В тесте «Брусья» (рис. 6) проверяли координацию движения экспериментальных животных. Животные с ротеноновой болезнью Паркинсона показали, что количество времени удержания на балках было значительно снижено по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,001$ ). Это свидетельствует о проявлении клинической симптоматики болезни Паркинсона двигательным симптомом, включая брадикинезию, тремор покоя, ригидность и нестабильность позы.

Крысы, получавшие в качестве терапии амантадин ( $p > 0,013$ ) и подвергшиеся трансплантации микробиоты ( $p > 0,003$ ), показали улучшение нервно-мышечной координации по сравнению с группой с ротеноновой болезнью Паркинсона. Статистический анализ не выявил значимых различий между группами с трансплантацией микробиоты, группой контроля и амантадина ( $p > 0,05$ ).

В настоящем исследовании мы применили метод трансплантации фекальной микробиоты в качестве терапии у пациентов с БП. На сегодняшний день экспериментальные и эпидемиологические данные свидетельствуют о том, что микробиом кишечника существенно влияет на развитие и прогрессирование множества нейродегенеративных заболеваний, включая БП [10, 27, 35, 36].

Мы опирались на данные, доказывающие, что микробиота в образцах фекалий пациентов с БП значительно отличалась от здоровых людей [29], образцы кала демонстрировали заметные различия. На таксономическом уровне бактерии рода *Blautia*, *Coprococcus* и *Roseburia*, отвечающие за предполагаемые «противовоспалительные» эффекты, были значительно более многочисленными в фекалиях контрольной группы, чем у пациентов с БП. Доля предполагаемых «провоспалитель-

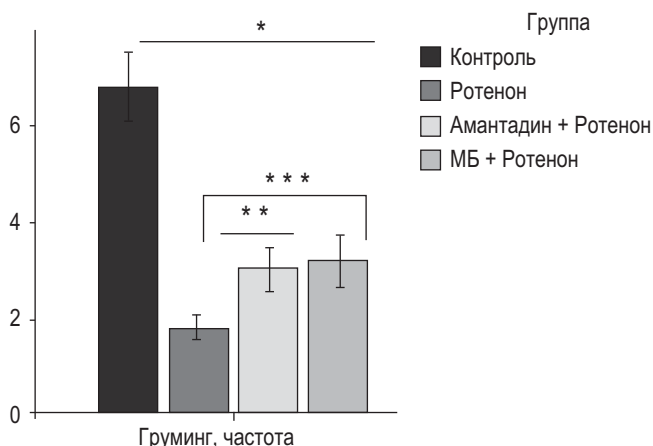


Рис. 4. Изменения количества актов груминга. Экспериментальные группы: 1 — «Контроль» ( $n=10$ ); 2 — «Ротенон» ( $n=10$ ); 3 — «Ротенон+амантадин» ( $n=10$ ); 4 — «Ротенон+микробиота». \* —  $p < 0,001$  по сравнению с контролем; \*\* —  $p < 0,0037$  при сравнении с ротеноновой болезнью Паркинсона; \*\*\* —  $p < 0,0033$  при сравнении с ротеноновой болезнью Паркинсона

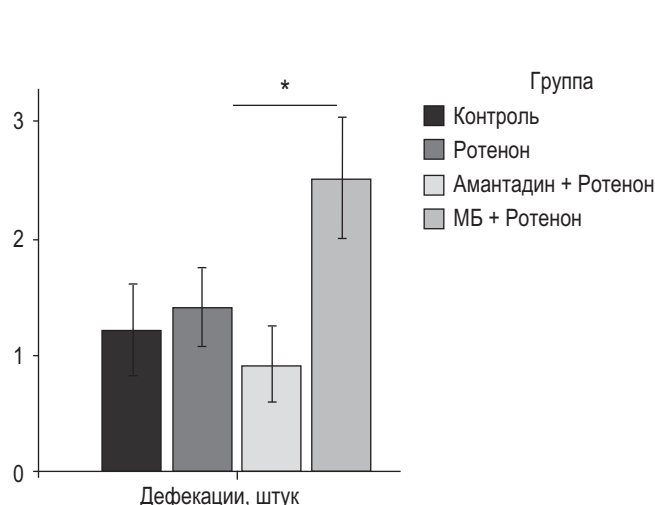


Рис. 5. Изменения количества болюсов дефекации. Экспериментальные группы: 1 — «Контроль» ( $n=10$ ); 2 — «Ротенон» ( $n=10$ ); 3 — «Ротенон+амантадин» ( $n=10$ ); 4 — «Ротенон+микробиота» ( $n=10$ ). \* —  $p < 0,03$  по сравнению с группой амантадина

тельных» протеобактерий рода *Ralstonia* были более представлены в слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта пациентов с БП, которая потенциально смещает микробный баланс в толстой кишке в сторону более воспалительного фенотипа у пациентов с БП [20, 23, 26].

Кроме того, доказано [36], что воспалительные продукты кишечного происхождения могут способствовать разрушению гематоэнцефалического барьера и таким образом способствовать потере дофаминергической активности [6, 7, 30, 33, 34]. В соответствии с этой гипотезой, при биопсии ткани толстой кишки, полученной от пациентов с БП, была обнаружена повышенная экспрессия провоспалительных цитокинов, включая TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , и повышенная активация кишечных глиальных клеток [27, 30–32].

Наши экспериментальные данные показали, что при трансплантации микробиоты от клинически здоровых животных крысам с ротеноновой болезнью Паркинсона, тестируемых в тесте «Открытое поле», наблюдалось значительное увеличение вертикальных стоек и количество актов принюхивания. Эти показатели характеризуют двигательную активность испытуемых животных, что может говорить об улучшении двигательной симптоматики. В тесте «Брусья» мы также наблюдали, что у тестируемых животных, подвергшихся трансплантации микробиоты, наблюдается более длительное удержание на шестах в отличие от крыс с ротеноновой БП. Эти показатели могут говорить об улучшении нервно-мышечной координации по сравнению с группой с ротеноновой болезнью Паркинсона.

Таким образом, необходимы дальнейшие исследования механизмов, с помощью которых кишечная микробиота способствует развитию и прогрессированию БП. Что еще более важно, существует большая неудовлетворенная потребность в определении того, может ли трансплантация микробиоты у клинически здоровых доноров предотвратить прогрессирование БП, а также смягчить течение и прогрессирование заболевания у тех, кто уже страдает двигательными симптомами.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Абдурасулова И.Н., Екимова И.В., Чернышев М.В. и др. Нарушение когнитивных функций у крыс Вистар в модели доклинической стадии болезни Паркинсона. Журнал высшей нервной деятельности. 2019; 69(3): 364–81.
2. Абдурасулова И.Н., Екимова И.В., Чернышев М.В. и др. Нарушение неассоциативного обучения у крыс в экспериментальной модели доклинической стадии болезни Паркинсона. ДАН. 2017; 3: 353–6.
3. Бакулина Т.С., Глушаков Р.И., Тапильская Н.И., Шабанов П.Д. Фармакология полипептидов как адаптогенов, снижающих интенсивность процессов гликирования. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2013; 11(4): 44–53.
4. Балакина М.Е., Дегтярева Е.В., Некрасов М.С. и др. Воздействие раннего постнатального стресса на психоэмоциональное

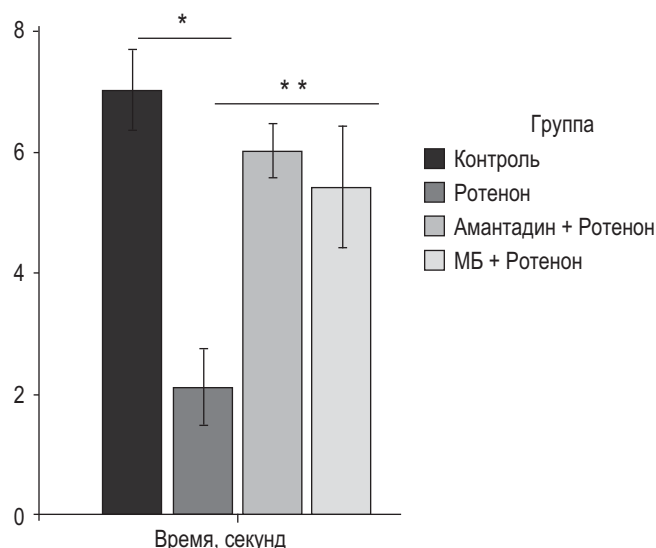


Рис. 6. Изменения времени удержания на брусках. Экспериментальные группы: 1 — «Контроль» (n=10); 2 — «Ротенон» (n=10); 3 — «Ротенон+амантадин»; 4 — «Ротенон+микробиота» (n=10). \* —  $p < 0,001$  по сравнению с контролем; \*\* —  $p < 0,05$  при сравнении с ротеноновой болезнью Паркинсона

состояние и развитие склонности к чрезмерному употреблению высокоуглеводной пищи у крыс. Российские биомедицинские исследования. 2021; 6(2): 27–37.

5. Брус Т.В., Пюрвеев С.С., Беляева И.В. и др. Влияние сочетанного действия пренатального метаболического синдрома и применения различных доз глюкокортикоидов при беременности на потомство (экспериментальное исследование). Детская медицина Северо-Запада. 2020; 8(1): 66–7.
6. Бычков Е.Р., Карпова И.В., Крюков А.С. и др. Обмен моноаминов в прилежащем ядре и стриатуме при активации положительных и отрицательных эмоциогенных зон латерального гипоталамуса у крыс. Наркология. 2020; 19(5): 38–43.
7. Бычков Е.Р., Лебедев А.А., Ефимов Н.С. и др. Особенности вовлечения дофаминергической и серотонинергической систем мозга в положительные и отрицательные эмоциональные состояния у крыс. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2020; 18(2): 123–30.
8. Гмиро Е.В., Сердюк С.Е., Веселкина О.С. Сравнение противопаркинсонической активности леводопы, мемантина и гуанидинсодержащих аналогов амантадина и мемантина (ИЭМ-2151 и ИЭМ-2163) у крыс с ротенон-индуцированным паркинсонизмом. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2017; 103(7): 768–77.
9. Данилова Л.А., Башарина О.Б., Красникова Е.Н. и др. Справочник по лабораторным методам исследования. М.: Питер; 2003.
10. Ищенко И.О., Царакаев В.Б., Могилева А.С. и др. Роль микробиоты кишечника в патогенезе болезни Паркинсона. Российские биомедицинские исследования. 2021; 6(1): 31–40.
11. Лазарев П., Могилева А., Некрасов М. и др. Стволовые клетки из пульпы зуба: иммунофенотипическая характеристика и дифференцировка. Forcipe. 2021; 4(1): 26–32.

12. Лытаев С.А., Сусин Д.С. ПЭТ-диагностика когнитивных нарушений у пациентов с болезнью Паркинсона. *Педиатр.* 2016; 7(2): 63–8. DOI: 10.17816/PED7263-68.
13. Матальгина О. Питание — кишечная микробиота — сердечно-сосудистые заболевания. Новое измерение. *Медицина: теория и практика.* 2019; 4(1): 271–6.
14. Милюхина И.В., Ермоленко Е.И., Иванова А.С. и др. Гастроэнтерологические нарушения и периферический воспалительный цитокиновый статус при болезни Паркинсона. *Медицинский академический журнал.* 2019; 19(1S): 93–4.
15. Милюхина И.В., Ермоленко Е.И., Иванова А.С., Суворов А.Н. Роль микробиоты желудочно-кишечного тракта в патогенезе болезни Паркинсона. *Неврологический журнал.* 2017; 22(6): 280–6. DOI: 10.18821/1560-9545-2017-22-6-280-286.
16. Милюхина И.В. Патогенез, клинические особенности и методы лечения депрессии при болезни Паркинсона. *Неврология, нейрохирургия, психосоматика.* 2019; 11(2): 93–9.
17. Пюрвеев С.С., Беляева И.В., Брус Т.В. и др. Влияние сочетанного действия больших доз глюкокортикоидов и пренатальной патологии беременности на потомство. *Детская медицина Северо-Запада.* 2020; 8(1): 301–2.
18. Трашков А.П., Брус Т.В., Васильев А.Г. и др. Динамика показателей красной крови у крыс с неалкогольной жировой болезнью печени и возможности ее коррекции. *Клиническая патофизиология.* 2017; 23(3): 66–72.
19. Трашков А.П., Панченко А.В., Каюкова Е.С. и др. Лейкемия P-388 у мышей линии CDF1 как тест-система опухоли-ассоциированного неангиогенеза и гиперкоагуляции. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2014; 158(10): 500–2.
20. Трашков А.П., Брус Т.В., Васильев А.Г. и др. Динамика показателей красной крови у крыс с неалкогольной жировой болезнью печени и возможности ее коррекции. *Клиническая патофизиология.* 2017; 23(3): 66–72.
21. Трашков А.П., Васильев А.Г., Цыган Н.В. и др. Антитромботическая терапия в онкологии: современное состояние проблемы и нерешенные вопросы. *Педиатр.* 2012; 3(2): 3–19.
22. Хайцев Н.В., Васильев А.Г., Трашков А.П. и др. Влияние возраста и пола на характер ответных реакций белых крыс при действии хронической гипоксической гипоксии. *Педиатр.* 2015; 6(2): 71–7.
23. Цыган Н.В., Одинак М.М., Пелешок А.С. и др. Нейропротекция при реконструктивных операциях на дуге аорты. *Вестник Российской Военно-медицинской академии.* 2012; 2(38): 119–27.
24. Шемеровский К.А., Брус Т.В., Пюрвеев С.С. Синдром брадиэнтерии ослабляет иммунную систему и снижает уровень качества жизни студентов-педиатров. *Российские биомедицинские исследования.* 2021; 6(2): 15–9.
25. Banks W.A., Erickson M.A. The blood-brain barrier and immune function and dysfunction. *Neurobiol Dis.* 2010; 37(1): 26–32. DOI: 10.1016/j.nbd.2009.07.031.
26. Braak H., Rüb U., Gai W.P., Del Tredici K. Idiopathic Parkinson's disease: possible routes by which vulnerable neuronal types may be subject to neuroinvasion by an unknown pathogen. *J Neural Transm (Vienna).* 2003; 110(5): 517–36. DOI: 10.1007/s00702-002-0808-2. PMID: 12721813.
27. Devos D., Leboviev T., Lardeux B. et al. Colonic inflammation in Parkinson's disease. *Neurobiol Dis.* 2013; 50: 42–8. DOI: 10.1016/j.nbd.2012.09.0.
28. Drobny A., Ngo P.A., Neurath M.F. et al. Molecular Communication Between Neuronal Networks and Intestinal Epithelial Cells in Gut Inflammation and Parkinson's Disease. *Front Med (Lausanne).* 2021; 8: 655123. Published 2021 Jul 22. DOI: 10.3389/fmed.2021.655123.
29. Fasano A., Visanji N.P., Liu L.W. et al. Gastrointestinal dysfunction in Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* 2015; 14(6): 625–39. DOI: 10.1016/S1474-4422(15)00007-1.
30. Forsyth C.B., Shannon K.M., Kordower J.H. et al. Increased intestinal permeability correlates with sigmoid mucosa alpha-synuclein staining and endotoxin exposure markers in early Parkinson's disease. *PLoS One.* 2011; 6(12): e28032. DOI: 10.1371/journal.pone.0028032.
31. Keshavarzian A., Green S.J., Engen P.A. et al. Colonic bacterial composition in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2015; 30(10): 1351–60. DOI: 10.1002/mds.26307.
32. Kashkin V.A., Fedorova O.V., Bagrov A.Y., et al. Endogenous sodium pump inhibitors, diabetes mellitus and preeclampsia. Preliminary observations and a hypothesis.
33. Knudsen K., Fedorova T.D., Bekker A.C. et al. Objective Colonic Dysfunction is Far more Prevalent than Subjective Constipation in Parkinson's Disease: A Colon Transit and Volume Study. *J Parkinsons Dis.* 2017; 7(2): 359–67. DOI: 10.3233/JPD-161050.
34. Lei Q., Wu T., Wu J. et al. Roles of  $\alpha$ -synuclein in gastrointestinal microbiome dysbiosis related Parkinson's disease progression (Review). *Mol Med Rep.* 2021; 24(4): 734. DOI: 10.3892/mmr.2021.12374.
35. Panchenko A.V., Popovich I.G., Egormin P.A. et al. Biomarkers of aging, life span and spontaneous carcinogenesis in the wild type and HER-2 transgenic FVB/N female mice. *Biogerontology.* 2016; 17(2): 317–24.
36. Vamanu E., Rai S.N. The Link between Obesity, Microbiota Dysbiosis, and Neurodegenerative Pathogenesis. *Diseases.* 2021; 9(3): 45. Published 2021 Jun 23. DOI: 10.3390/diseases9030045.

## REFERENCES

1. Abdurasulova I.N., Yekimova I.V., Chernyshev M.V. i dr. Narusheniye kognitivnykh funktsiy u kryс Vistar v modeli doklinicheskoy stadii bolezni Parkinsona. [Cognitive impairment in Wistar rats in the preclinical stage of Parkinson's disease]. *Zhurnal vysshey nervnoy deyatel'nosti.* 2019; 69(3): 364–81. (in Russian)
2. Abdurasulova I.N., Yekimova I.V., Chernyshev M.V. i dr. Narusheniye neassotsiativnogo obucheniya u kryс v eksperimental'noy modeli doklinicheskoy stadii bolezni Parkinsona. [Impairment of non-associative learning in rats in an experimental model of the preclinical stage of Parkinson's disease]. *DAN. DAN.* 2017; 3: 353–6. (in Russian)



3. Bakulina T.S., Glushakov R.I., Tapi'skaya N.I., Shabanov P.D. Farmakologiya poliprenolov kak adaptogenov, snizhayushchikh intensivnost' protsessov glikirovaniya. [Pharmacology of polyphenols as adaptogens that reduce the intensity of glycation processes]. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii*. 2013; 11(4): 44–53. (in Russian)
4. Balakina M.Ye., Degtyareva Ye.V., Nekrasov M.S. i dr. Vozdeystviye rannego postnatal'nogo stressa na psikhooemotsional'noye sostoyaniye i razvitiye sklonnosti k chrezmernomu upotrebleniyu vysokouglevodnoy pishchi u kryss. [Effects of early postnatal stress on psychoemotional state and development of a tendency to excessive consumption of high-carbohydrate food in rats]. *Rossiyskiye biomeditsinskiye issledovaniya*. 2021; 6(2): 27–37. (in Russian)
5. Brus T.V., Pyurveyev S.S., Belyayeva I.V. i dr. Vliyaniye sochetannogo deystviya prenatal'nogo metabolicheskogo sindroma i primeneniya razlichnykh doz glyukokortikoidov pri beremennosti na potomstvo (eksperimental'noye issledovaniye). [Influence of the combined action of prenatal metabolic syndrome and the use of various doses of glucocorticoids during pregnancy on offspring (experimental study)]. *Detskaya meditsina Severo-Zapada*. 2020; 8(1): 66–7. (in Russian)
6. Bychkov Ye.R., Karpova I.V., Kryukov A.S. i dr. Obmen monoaminov v prilozhashchem yadre i striatume pri aktivatsii polozhitel'nykh i otritsatel'nykh emotsiogennykh zon lateral'nogo gipotalamusa u kryss. [Exchange of monoamines in the nucleus accumbens and striatum upon activation of positive and negative emotogenic zones of the lateral hypothalamus in rats]. *Narkologiya*. 2020; 19(5): 38–43. (in Russian)
7. Bychkov Ye.R., Lebedev A.A., Yefimov N.S. i dr. Osobennosti vovlecheniya dofaminergicheskoy i serotoninergicheskoy sistem mozga v polozhitel'nyye i otritsatel'nyye emotsional'nyye sostoyaniya u kryss. [Features of the involvement of the dopaminergic and serotonergic systems of the brain in positive and negative emotional states in rats]. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii*. 2020; 18(2): 123–30. (in Russian)
8. Gmiro Ye.V., Serdyuk S.Ye., Veselkina O.S. Sravneniye protivoparkinsonicheskoy aktivnosti levodopy, memantina i guanidinsoderzhashchikh analogov amantadina i memantina (IEM-2151 i IEM-2163) u kryss s rotenon-indutsirovannym parkinsonizmom. [Comparison of antiparkinsonian activity of levodopa, memantine and guanidine-containing analogs of amantadine and memantine (IEM-2151 and IEM-2163) in rats with rotenone-induced parkinsonism]. *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2017; 103(7): 768–77. (in Russian)
9. Danilova L.A., Basharina O.B., Krasnikova Ye.N. i dr. Spravochnik po laboratornym metodam issledovaniya. [Reference book on laboratory research methods]. Moskva: Piter Publ.; 2003. (in Russian)
10. Ishchenko I.O., Tsarakayev V.B., Mogileva A.S. i dr. Rol' mikrobioty kishhechnika v patogeneze bolezni Parkinsona. [The role of gut microbiota in the pathogenesis of Parkinson's disease]. *Rossiyskiye biomeditsinskiye issledovaniya*. 2021; 6(1): 31–40. (in Russian)
11. Lazarev P., Mogileva A., Nekrasov M. i dr. Stvolovyye kletki iz pul'py zuba: immunofenotipicheskaya kharakteristika i differentsirovka. [Stem cells from tooth pulp: immunophenotypic characteristics and differentiation]. *Forcipe*. 2021; 4(1): 26–32. (in Russian)
12. Lytayev S.A., Susin D.S. PET-diagnostika kognitivnykh narusheniy u patsiyentov s boleznyu Parkinsona. [PET diagnosis of cognitive impairment in patients with Parkinson's disease]. *Pediatr*. 2016; 7(2): 63–8. DOI: 10.17816/PED7263-68. (in Russian)
13. Matylygina O. Pitaniye — kishhechnaya mikrobiota — serdechno-sosudistyye zabolevaniya. [Nutrition — intestinal microbiota — cardiovascular diseases]. *Novoye izmereniye. Meditsina: teoriya i praktika*. 2019; 4(1): 271–6. (in Russian)
14. Milyukhina I.V., Yermolenko Ye.I., Ivanova A.S. i dr. Gastroenterologicheskiye narusheniya i perifericheskii vospalitel'nyy tsitokinovyy status pri bolezni Parkinsona. [Gastroenterological disorders and peripheral inflammatory cytokine status in Parkinson's disease]. *Meditsinskiy akademicheskii zhurnal*. 2019; 19(1S): 93–4. (in Russian)
15. Milyukhina I.V., Yermolenko Ye.I., Ivanova A.S., Suvorov A.N. Rol' mikrobioty zheludochno-kishhechnogo trakta v patogeneze bolezni Parkinsona. [The role of the gastrointestinal tract microbiota in the pathogenesis of Parkinson's disease]. *Nevrologicheskii zhurnal*. 2017; 22(6): 280–6. DOI: 10.18821/1560-9545-2017-22-6-280-286. (in Russian)
16. Milyukhina I.V. Patogenez, klinicheskiye osobennosti i metody lecheniya depressii pri bolezni Parkinsona. [Pathogenesis, clinical features and treatments for depression in Parkinson's disease]. *Nevrologiya, neyrokhirurgiya, psikhosomatika*. 2019; 11(2): 93–9. (in Russian)
17. Pyurveyev S.S., Belyayeva I.V., Brus T.V. i dr. Vliyaniye sochetannogo deystviya bol'shikh doz glyukokortikoidov i prenatal'noy patologii beremennosti na potomstvo. [Influence of the combined action of high doses of glucocorticoids and prenatal pathology of pregnancy on the offspring]. *Detskaya meditsina Severo-Zapada*. 2020; 8(1): 301–2. (in Russian)
18. Trashkov A.P., Brus T.V., Vasil'yev A.G. i dr. Dinamika pokazateley krasnoy krovi u kryss s nealkogol'noy zhirovoy boleznyu pecheni i vozmozhnosti yeye korrektsii. [Dynamics of indicators of red blood in rats with non-alcoholic fatty liver disease and the possibility of its correction]. *Klinicheskaya patofiziologiya*. 2017; 23(3): 66–72. (in Russian)
19. Trashkov A.P., Panchenko A.V., Kayukova Ye.S. i dr. Leykemiya R-388 u myshey linii CDF1 kak test-sistema opukhol'-assotsiirovannogo neoangiogeneza i giperkoagulyatsii. [P-388 leukemia in CDF1 mice as a test system for tumor-associated neoangiogenesis and hypercoagulation]. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2014; 158(10): 500–2. (in Russian)
20. Trashkov A.P., Brus T.V., Vasil'yev A.G. i dr. Dinamika pokazateley krasnoy krovi u kryss s nealkogol'noy zhirovoy boleznyu pecheni i vozmozhnosti yeye korrektsii. [Dynamics of indicators of red blood in rats with non-alcoholic fatty liver disease and the possibility of its correction]. *Klinicheskaya patofiziologiya*. 2017; 23(3): 66–72. (in Russian)
21. Trashkov A.P., Vasil'yev A.G., Tsygan N.V. i dr. Antitromboticheskaya terapiya v onkologii: sovremennoye sostoyaniye problemy i nereshennyye voprosy. [Antithrombotic therapy in oncology: current

- state of the problem and unresolved issues]. *Pediatr.* 2012; 3(2): 3–19. (in Russian)
22. Khaytsev N.V., Vasil'yev A.G., Trashkov A.P. i dr. Vliyaniye vozrasta i pola na kharakter otvetnykh reaktsiy belykh kryss pri deystvii khronicheskoy gipoksicheskoy gipoksii. [Influence of age and sex on the nature of responses in white rats under the influence of chronic hypoxic hypoxia]. *Pediatr.* 2015; 6(2): 71–7. (in Russian)
  23. Tsygan N.V., Odinak M.M., Peleshok A.S. i dr. Neyroprotektsiya pri rekonstruktivnykh operatsiyakh na duge aorty. [Neuroprotection in reconstructive operations on the aortic arch]. *Vestnik Rossiyskoy Voyenno-meditsinskoy akademii.* 2012; 2(38): 119–27. (in Russian)
  24. Shemerovskiy K.A., Brus T.V., Pyurveyev S.S. Sindrom bradienterii oslablyayet immunnuyu sistemu i ponizhayet uroven' kachestva zhizni studentov-pediatrov. [Bradyenteria syndrome weakens the immune system and lowers the quality of life of pediatric students]. *Rossiyskiye biomeditsinskiye issledovaniya.* 2021; 6(2): 15–9. (in Russian)
  25. Banks W.A., Erickson M.A. The blood-brain barrier and immune function and dysfunction. *Neurobiol Dis.* 2010; 37(1): 26–32. DOI: 10.1016/j.nbd.2009.07.031.
  26. Braak H., Rüb U., Gai W.P., Del Tredici K. Idiopathic Parkinson's disease: possible routes by which vulnerable neuronal types may be subject to neuroinvasion by an unknown pathogen. *J Neural Transm (Vienna).* 2003; 110(5): 517–36. DOI: 10.1007/s00702-002-0808-2. PMID: 12721813.
  27. Devos D., Lebouvier T., Lardeux B. et al. Colonic inflammation in Parkinson's disease. *Neurobiol Dis.* 2013; 50: 42–8. DOI: 10.1016/j.nbd.2012.09.0.
  28. Drobny A., Ngo P.A., Neurath M.F. et al. Molecular Communication Between Neuronal Networks and Intestinal Epithelial Cells in Gut Inflammation and Parkinson's Disease. *Front Med (Lausanne).* 2021; 8: 655123. Published 2021 Jul 22. DOI: 10.3389/fmed.2021.655123.
  29. Fasano A., Visanji N.P., Liu L.W. et al. Gastrointestinal dysfunction in Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* 2015; 14(6): 625–39. DOI: 10.1016/S1474-4422(15)00007-1.
  30. Forsyth C.B., Shannon K.M., Kordower J.H. et al. Increased intestinal permeability correlates with sigmoid mucosa alpha-synuclein staining and endotoxin exposure markers in early Parkinson's disease. *PLoS One.* 2011; 6(12): e28032. DOI: 10.1371/journal.pone.0028032.
  31. Keshavarzian A., Green S.J., Engen P.A. et al. Colonic bacterial composition in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2015; 30(10): 1351–60. DOI: 10.1002/mds.26307.
  32. Kashkin V.A., Fedorova O.V., Bagrov A.Y., et al. Endogenous sodium pump inhibitors, diabetes mellitus and preeclampsia. Preliminary observations and a hypothesis.
  33. Knudsen K., Fedorova T.D., Bekker A.C. et al. Objective Colonic Dysfunction is Far more Prevalent than Subjective Constipation in Parkinson's Disease: A Colon Transit and Volume Study. *J Parkinsons Dis.* 2017; 7(2): 359–67. DOI: 10.3233/JPD-161050.
  34. Lei Q., Wu T., Wu J. et al. Roles of  $\alpha$ -synuclein in gastrointestinal microbiome dysbiosis-related Parkinson's disease progression (Review). *Mol Med Rep.* 2021; 24(4): 734. DOI: 10.3892/mmr.2021.12374.
  35. Panchenko A.V., Popovich I.G., Egormin P.A. et al. Biomarkers of aging, life span and spontaneous carcinogenesis in the wild type and HER-2 transgenic FVB/N female mice. *Biogerontology.* 2016; 17(2): 317–24.
  36. Vamanu E., Rai S.N. The Link between Obesity, Microbiota Dysbiosis, and Neurodegenerative Pathogenesis. *Diseases.* 2021; 9(3): 45. Published 2021 Jun 23. DOI:10.3390/diseases9030045.

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПЕЧЕНИ ПРИ ЖИРОВОЙ ДИСТРОФИИ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ

© Татьяна Викторовна Брус<sup>1</sup>, Сарнг Саналович Пюрвеев<sup>1,2</sup>, Анна Валентиновна Васильева<sup>1</sup>, Михаил Маркович Забежинский<sup>1</sup>, Алефтина Алексеевна Кравцова<sup>1</sup>, Мария Александровна Пахомова<sup>1</sup>, Владимир Иосифович Утехин<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет. 194100, Санкт-Петербург, Литовская ул., д. 2

<sup>2</sup> Институт экспериментальной медицины. 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Попова, д. 12

**Контактная информация:** Татьяна Викторовна Брус — к.м.н., доцент кафедры патологической физиологии с курсом иммунопатологии.  
E-mail: bant.90@mail.ru

Поступила: 02.06.2021

Одобрена: 12.08.2021

Принята к печати: 17.09.2021

**Резюме:** До настоящего времени не сформировано единого мнения о том, какие изменения происходят в гепатоцитах при развитии жировой дистрофии печени (ЖДП). Существуют противоречия в оценке клинической интерпретации ЖДП, дискуссионными и сложными остаются определение степени выраженности факторов риска, степени прогрессирования воспаления и повреждения гепатоцитов, а также отсутствие четких дифференциальных критериев ЖДП и метаболического СГ, что диктует необходимость поиска инновационных подходов к диагностике и коррекции этих осложнений. Несмотря на существенный интерес к медико-социальной важности рассматриваемой проблемы, не вполне изученным является аспект значимости ЖДП в отношении прогнозирования риска осложнений. В ходе исследования воспроизведены и отработаны модели жировой дистрофии печени различной этиологии: алкогольной, неалкогольной и смешанной. Высокоуглеводная и насыщенная этанолом диета приводит к быстрому развитию патологических процессов в печени. Показана целесообразность детального морфологического исследования печени совместно с учетом данных анамнеза, лабораторных показателей цитолитического и холестатического синдромов для дифференциальной диагностики жировой дистрофии печени различной этиологии.

**Ключевые слова:** неалкогольная жировая болезнь печени; алкогольная жировая болезнь печени; стеатоз; стеатогепатит; жировая дистрофия; моделирование.

## MORPHOLOGICAL LIVER CHANGES IN CASE OF VARIOUS ETHIOLOGY FATTY DISTROPHY

© Tatyana V. Brus<sup>1</sup>, Sarng S. Pyurveev<sup>1,2</sup>, Anna V. Vasilieva<sup>1</sup>, Michail M. Zabeghinsky<sup>1</sup>, Alefina A. Kravtsova<sup>1</sup>, Mariya A. Pahomova<sup>1</sup>, Vladimir J. Utekhin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Saint-Petersburg State Pediatric Medical University. 194100, Saint-Petersburg, Litovskaya str., 2

<sup>2</sup> Institute for Experimental Medicine. 197376, Saint-Petersburg, str. Academician Pavlova, 12

**Contact information:** Tatyana V. Brus — Ph.D., Associate Professor of the Department of Pathological Physiology with a course of immunopathology.  
E-mail: bant.90@mail.ru

Received: 02.06.2021

Revised: 12.08.2021

Accepted: 17.09.2021

**Abstract:** Until nowadays there is no common opinion regarding the changes that are taking place in hepatocytes during the development of Liver Fatty Distrophy (LFD). Clinical interpretations assessment of LFD are contradictory as well as the degree of the risk factors determination and the rate of inflammation progressing and hepatocytes' damage, and the absence of concrete LFD and metabolic steatohepatite differential criteria absence, thus dictating the necessity of the search for new diagnostic approaches and correction of these complications. In spite of considerable interest and medico-social interest towards this problem the importance of LFD role for complications risk prognosis is yet unsolved.

The present study reproduced and perfected various etiology LFD models: alcoholic, non-alcoholic and combination. High-carbohydrate and ethanol-rich diet causes fast development of pathological processes in the liver. Expediency of detailed morphological scrutiny of the liver has been demonstrated side by side with anamnestic studies, laboratory testing of cytolytic and cholestatic syndrome parameters for differential diagnostics of various etiology LFD.

**Key words:** non-alcoholic fatty liver disease; alcoholic fatty liver disease; steatosis; steatohepatites; fatty dystrophy; experimental modeling.

В настоящее время термин «жировая дистрофия печени» (ЖДП), или «жировая болезнь печени» (ЖБП), обозначает гетерогенную группу патологических изменений печени, характеризующихся жировой дистрофией гепатоцитов и/или воспалительной инфильтрацией на фоне жировой дистрофии гепатоцитов. Выделяют стадии ЖДП: стеатоз печени (СП), стеатогепатит (СГ), цирроз печени [4, 7].

Основным этиологическим фактором развития СП и СГ остается употребление алкоголя, роль которого удается подтвердить у 46–65% пациентов [1, 11]. Накоплены убедительные данные, свидетельствующие о том, что ожирение, инсулинорезистентность также представляют собой факторы прогрессирования СП и СГ алкогольной и неалкогольной этиологии. Ожирению в развитии стеатогепатитов отводят около 76% [3, 6, 9]. Одновременное влияние нескольких факторов, таких как алкоголь и ожирение, приводит к незамедлительному развитию СП и СГ у 95% пациентов. В связи с этим сегодня алкоголь, ожирение, инсулинорезистентность рассматривают как взаимодополняющие факторы поражения печени смешанного генеза.

Особое внимание уделяется метаболическому синдрому (МС), олицетворяющему в настоящее время одну из наиболее приоритетных и социально-значимых проблем как педиатрии, так и терапии. Это обусловлено в первую очередь высокой распространенностью и прогрессирующим течением данного заболевания [12, 13, 15]. Ранние осложнения проявляются симптомокомплексом, в который входят задержка темпов физического и полового развития и хроническое нарушение функции печени с формированием ЖДП [4, 8].

Основными примерами патологии печени метаболического и токсического генеза являются неалкогольная (НАЖБП), алкогольная жировая болезнь печени (АЖБП) и жировая дистрофия смешанного генеза (СЖБП). Согласно результатам современных рандомизированных исследований, частота развития этих патологий неуклонно растет с каждым годом. Алкоголизация населения — тяжелая социальная и медицинская проблема, в связи с чем распространенность алкогольной жировой болезни печени достаточно высока и составляет 25–40% среди взрослого населения [5, 10, 14].

Эпидемиологическое соотношение АБП/НАЖБП составляет 10:1 [16]. Несмотря на многолетнее изучение различных аспектов АЖБП и НАЖБП, многое остается неясным. Данная патология является широко распространенной проблемой с многофакторным патогенезом, имеющим особенности, которые необходимо учитывать при составлении программы об-

следования, при назначении этиотропной и патогенетической терапии.

Пожалуй, самой распространенной причиной жировой дистрофии печени является совокупность факторов: избыточность питания; диета, насыщенная углеводами и жирами, и достаточно систематическое употребление алкоголя. В связи с этим для настоящего исследования нами разработана экспериментальная модель, отображающая наиболее значимые этиологические факторы в развитии ЖДП у человека (патент на изобретение № 2757199. Способ моделирования жировой болезни печени смешанного генеза [2]).

При ЖДП любой этиологии возможное отсутствие изменений лабораторных показателей, характеризующих функциональное состояние печени, не исключает наличия воспалительно-деструктивного процесса и фиброза [17]. Визуализационные методы диагностики, несмотря на достаточно высокую информативность, не позволяют выявить признаки стеатогепатита, степень его активности и стадию фиброзных изменений в печени, поэтому с целью верификации диагноза необходимо проведение гистологического исследования биоптата печени.

## ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Провести сравнительное исследование гистологических изменений печени лабораторных крыс при моделировании жировой болезни печени различного генеза.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 48 самцах-альбиносах серых крыс Wistar с массой тела на момент включения в исследование 220–240 г на базе научно-исследовательской лаборатории кафедры патологической физиологии с курсом иммунопатологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. План исследования, стандартизированные операционные процедуры и сопроводительная документация прошли этическую экспертизу Локального этического комитета при ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Всего было сформировано 4 экспериментальных группы:

1. «Контроль» (n=12) — здоровые, интактные крысы, у которых исследовали параметры метаболизма для рас-



чета фоновых, референсных значений («нормальные показатели»).

2. «НАЖБП» (n=12) — крысы, которые на протяжении всего эксперимента в течение 30 дней в качестве корма получали брикеты, содержащие пищевые компоненты в следующих соотношениях (по массе): 26% — белок, 10% — животный жир, 50% — фруктоза, 8% — целлюлоза, 5% — минеральные вещества (по ГОСТ), 1% — витамины (по ГОСТ).
3. «АЖБП» (n=12) — крысы, которые на протяжении всего эксперимента в течение 30 дней в качестве корма получали стандартные пищевые брикеты для грызунов (по ГОСТ) и вместо питьевой воды — 15% раствор этанола.
4. «СЖБП» (n=12) — крысы, которые на протяжении всего эксперимента в течение 30 дней в качестве корма получали брикеты, содержащие пищевые компоненты в следующих соотношениях (по массе): 31% — белок, 15% — животный жир, 30% — фруктоза, 13% — целлюлоза, 5% — минеральные вещества (по ГОСТ), 1% — витамины (по ГОСТ) и вместо питьевой воды — 10% раствор этанола (патент на изобретение № 2757199). Способ моделирования жировой болезни печени смешанного генеза [2]).

В настоящее время пункционная биопсия печени по-прежнему остается «золотым стандартом» диагностики ЖДП. Гистологическое исследование биоптатов печени дает возможность с высокой точностью провести дифференциальную диагностику между алкогольным, неалкогольным и смешанным стеатозом, оценить стадию фиброза и прогнозировать дальнейшее лечение заболевания, а также исключить другие причины поражения печени. Необходимость пункционной биопсии печени следует рассматривать в трудных диагностических ситуациях и при наличии множественных факторов риска прогрессирования ЖДП. Гистологическое исследова-

ние проводилось методом световой микроскопии, окраска гематоксилином–эозином,  $\times 40$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе гистологического исследования была выявлена различная степень выраженности морфологических изменений в разных экспериментальных группах. Все экспериментальные группы объединяют признаки жировой дистрофии гепатоцитов, стеатонекроза, внутريدолькового воспаления и фиброза.

У животных группы НАЖБП на гистологических препаратах печени регистрировалась мононуклеарная инфильтрация, гиперемия синусоидов, нарушение балочной структуры (рис. 1). В экспериментальной группе с НАЖБП наблюдается крупнокапельная жировая дистрофия, которая характеризуется наличием крупных липидных капель в цитоплазме гепатоцитов со смещением ядра к периферии клетки. Фиброз при НАЖБП изначально может быть периферальным и перипортальным, прогрессировать в мостовидную форму, соединяющую центральные вены с портальными венами и, в итоге, в цирроз [19]. Зачастую фиброз при НАЖБП может и отсутствовать, но в ряде случаев выражен весьма значительно. Слабый или умеренный фиброз выявляется в 47–100% случаев [10, 13, 18]; тяжелый — в 10–50% [13, 21, 16]. Цирроз при НАЖБП у взрослых пациентов развивается еще реже, чем фиброз (7–17%) [13, 21, 22], а у детей не встречается совсем [23].

Признаки дегенерации печеночной ткани наиболее выражены в группе с АЖБП. Заметны признаки баллонной дистрофии, апоптоза гепатоцитов (рис. 2). Выявлена мелкокапельная жировая дистрофия: в гепатоцитах множество мелких липидных капель, ядро располагается в центре клетки. Обнаруживаются также гепатоциты в состоянии баллонной

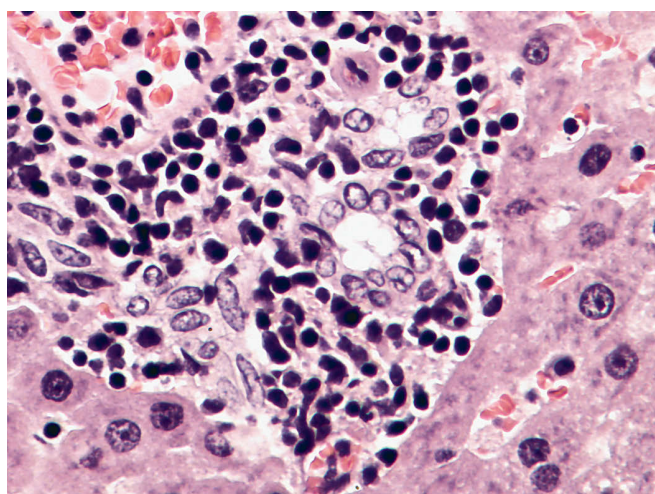


Рис. 1. Неалкогольная жировая болезнь печени (биоптат печени, окраска гематоксилин–эозин,  $\times 40$ ). Мононуклеарная инфильтрация

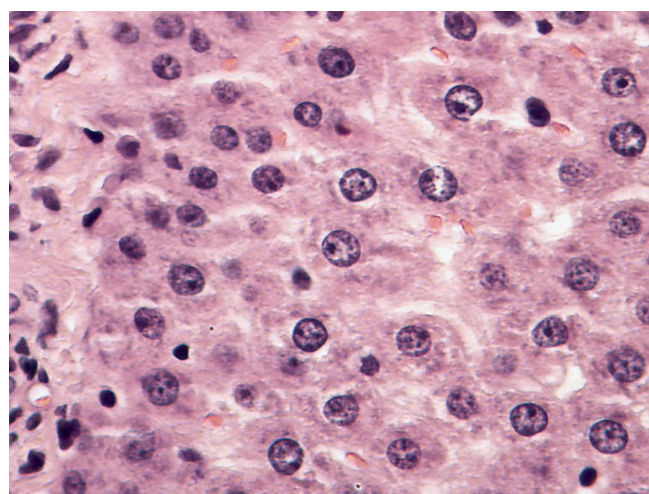


Рис. 2. Алкогольная жировая болезнь печени (биоптат печени, окраска гематоксилин–эозин,  $\times 40$ ). Признаки апоптоза гепатоцитов

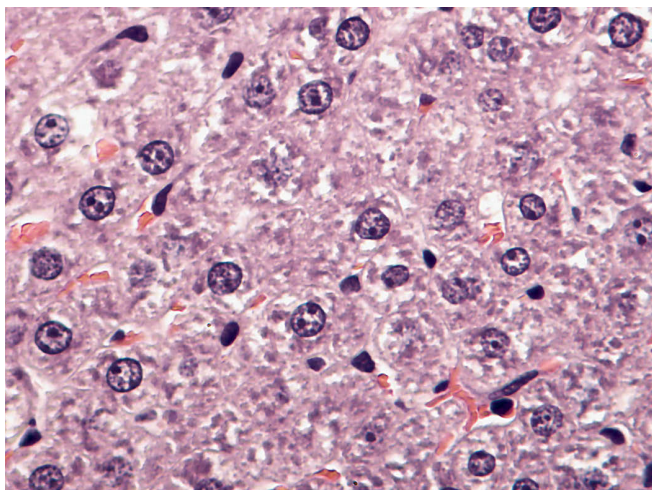


Рис. 3. Жировая дистрофия смешанного генеза (биоптат печени, окраска гематоксилин-эозин,  $\times 40$ ). Нарушение балочной структуры

дистрофии. Фокальные центролобулярные некрозы чаще развиваются при мелкокапельном стеатозе. Частота обнаружения гиалиновых телец Маллори в значительной степени варьирует: по разным данным, они выявляются в 9-90% случаев [13, 20, 21, 22]. Их обычно немного, они имеют небольшой размер и часто располагаются в 3-й зоне (по классификации Раппапорта) [18].

Менее значимое нарушение балочной структуры наблюдалось в группе со смешанной жировой дистрофией (рис. 3). Стеатоз смешанного типа (мелко-крупнокапельное ожирение) следует расценивать как мелкокапельный, так как оба эти варианта прогностически менее благоприятны по сравнению с крупнокапельным. Воспалительный инфильтрат внутри долек содержит нейтрофилы, лимфоциты и гистиоциты. Диагноз устанавливается в присутствии стеатоза одновременно с наличием разнообразных сочетаний гликогеновых ядер, воспаления, баллонизации клеток и перичеллюлярного фиброза. Воспаление, как правило, бывает диффузным и характеризуется смешанной инфильтрацией лейкоцитами [19].

## ВЫВОДЫ

В ходе настоящего исследования предложены и отработаны модели жировой дистрофии печени различной этиологии: алкогольной, неалкогольной и смешанной. Установлено, что высокоуглеводная и насыщенная этанолом диета приводит к быстрому развитию патологических процессов в печени.

В эксперименте для ЖДП алкогольного генеза характерны наиболее выраженные морфологические изменения печеночной ткани по сравнению с другими экспериментальными группами: на фоне жировой дистрофии гепатоцитов характерно наличие телец Маллори (алкогольного гиалина), баллонной дегенерации и перисинусоидальный сетевидный фиброз. При НАЖБП регистрируется мелкокапельный стеатоз, ядро располагается в центре клетки, характерна инфильтрация по-

лиморфноядерными лейкоцитами с некрвоспалительными изменениями. Изменения гистологической структуры, характерные для жировой дистрофии смешанной этиологии: полнокровие, диффузная жировая инфильтрация гепатоцитов, их баллонизации, наличие гликогеновых ядер.

Таким образом, показана целесообразность детального морфологического исследования печени совместно с учетом данных анамнеза, лабораторных показателей цитолитического и холестатического синдромов для дифференциальной диагностики жировой дистрофии печени различной этиологии.

Своевременная постановка диагноза согласно гистологическим изменениям печени при различных формах ЖДП и их фармакологическая коррекция открывают новые перспективы в лечении данной патологии. В настоящее время акцент следует делать на устранение этиологических, патогенетических факторов, вызвавших жировую дистрофию и модификацию образа жизни; использовать препараты, доказавшие эффективность при отдельных вариантах ЖДП, и симптоматическую терапию. Это становится возможным лишь при правильно верифицированном диагнозе с учетом гистологической картины заболевания.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Балакина М.Е., Дегтярева Е.В., Некрасов М.С. и др. Воздействие раннего постнатального стресса на психоэмоциональное состояние и развитие склонности к чрезмерному употреблению высокоуглеводной пищи у крыс. Российские биомедицинские исследования. 2021; 6(2): 27–37.
2. Брус Т.В., Васильев А.Г., Трашков А.П. и др. Способ моделирования жировой болезни печени смешанного генеза у крыс. Пат. 2757199. Российская Федерация МПК А61D 99/00, G09B 23/28, C13K 11/00. Патентообладатель СПбГПМУ. № 2020139933; завл. 03.12.2020, опубли. 12.10.2021, Бюл. №29.
3. Пюрвеев С.С., Беляева И.В., Брус Т.В. и др. Влияние сочетанного действия больших доз глюкокортикоидов и пренатальной патологии беременности на потомство. Детская медицина Северо-Запада. 2020; 8(1): 301–2.
4. Трашков А.П., Брус Т.В., Васильев А.Г. и др. Динамика показателей красной крови у крыс с неалкогольной жировой болезнью печени и возможности ее коррекции. Клиническая патофизиология. 2017; 23(3): 66–72.
5. Трашков А.П., Васильев А.Г., Цыган Н.В. и др. Антитромботическая терапия в онкологии: современное состояние проблемы и нерешенные вопросы. Педиатр. 2012; 3(2): 3–19.
6. Трашков А.П., Панченко А.В., Каюкова Е.С. и др. Лейкемия Р-388 у мышей линии CDF1 как тест-система опухоли-ассоциированного неангиогенеза и гиперкоагуляции. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2014; 158(10): 500–2.
7. Тюкавин А.И., Васильев А.Г., Петрищев Н.Н. Патология. М.; 2012.
8. Хайцев Н.В., Васильев А.Г., Трашков А.П. и др. Влияние возраста и пола на характер ответных реакций белых крыс при действии хронической гипоксической гипоксии. Педиатр. 2015; 6(2): 71–7.

9. Цыган Н.В., Одинак М.М., Пелешок А.С. и др. Нейропротекция при реконструктивных операциях на дуге аорты. Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2012; 2(38): 119–27.
10. Шемеровский К.А., Брус Т.В., Пюрвеев С.С. Синдром брадиэнтерии ослабляет иммунную систему и понижает уровень качества жизни студентов-педиатров. Российские биомедицинские исследования. 2021; 6(2): 15–9.
11. Åberg F., Puukka P., Salomaa V. et al. Risks of light and moderate alcohol use in fatty liver disease: follow-up of population cohorts. *Hepatology*. 2020; 71(3): 835–48.
12. Alwis N.M.W., Day C.P. Nonalcoholic fatty liver disease. The mist gradually clears. *J. Hepatol*. 2008; 48: 104–12.
13. Boyle M., Masson S., Anstee Q.M. The bidirectional impacts of alcohol consumption and the metabolic syndrome: cofactors for progressive fatty liver disease. *J. Hepatol*. 2018; 68(2): 251–67.
14. Chang Y., Cho Y.K., Kim Y. et al. Nonheavy drinking and worsening of noninvasive fibrosis markers in nonalcoholic fatty liver disease: a cohort study. *Hepatology*. 2019; 69(1): 64–75.
15. Cotrim H.P., Parise E.R., Oliveira C.P. et al. Nonalcoholic fatty liver disease in Brazil. Clinical and histological profile. *Ann. Hepatol*. 2011; 10(1): 33–7.
16. Lassale C., Tzoulaki I., Moons K.G.M. et al. Separate and combined associations of obesity and metabolic health with coronary heart disease: a pan-European case-cohort analysis. *Eur. Heart J*. 2018; 39(5): 397–406.
17. Lomonaco R. Effect of adipose tissue insulin resistance on metabolic parameters and liver histology in obese patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2012; 55: 1389–97.
18. Mitra S., De A., Chowdhury A. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver diseases. *Transl. Gastroenterol. Hepatol*. 2020; 5. ID 16.
19. Panchenko A.V., Popovich I.G., Egormin P.A. et al. Biomarkers of aging, life span and spontaneous carcinogenesis in the wild type and HER-2 transgenic FVB/N female mice. *Biogerontology*. 2016; 17(2): 317–24.
20. Rich N.E., Oji S., Mufti A.R. et al. Racial and ethnic disparities in nonalcoholic fatty liver disease prevalence, severity, and outcomes in the United States: a systematic review and meta-analysis. *Clin. Gastroenterol. Hepatol*. 2018; 16(2): 198–210.
21. Romero-Gomez M., Zelber-Sagi S., Trenell M. Treatment of NAFLD with diet, physical activity and exercise. *J. Hepatol*. 2017; 67(4): 829–46.
22. Winkler T.W., Gunther F., Hollerer S. et al. A joint view on genetic variants for adiposity differentiates subtypes with distinct metabolic implications. *Nat. Commun*. 2018; 9(1).
23. Younossi Z.M. Non-alcoholic fatty liver disease — a global public health perspective. *J. Hepatol*. 2019; 70(3): 531–44.
24. Younossi Z.M., Stepanova M., Ong J. et al. Effects of alcohol consumption and metabolic syndrome on mortality in patients with non-alcoholic and alcohol-related fatty liver disease. *Clin. Gastroenterol. Hepatol*. 2018; 17(8): 1625–33.e1.
25. niye i razvitiye sklonnosti k chrezmernomu upotrebleniyu vysokouglevodnoy pishchi u kryss. [Effects of early postnatal stress on the psychoemotional state and the development of a tendency to excessive consumption of high-carbohydrate food in rats]. *Rossiyskiye biomeditsinskiye issledovaniya*. 2021; 6(2): 27–37. (in Russian)
26. Brus T.V., Vasil'yev A.G., Trashkov A.P. i dr. Sposob modelirovaniya zhirovoy bolezni pecheni smeshannogo geneza u kryss. [Method for modeling fatty liver disease of mixed genesis in rats]. Pat. 2757199. Rossiyskaya Federatsiya MPK A61D 99/00, G09B 23/28, C13K 11/00. Patentobladatel' SPbGPMU. № 2020139933; zav. 03.12.2020, opubl. 12.10.2021, Byul. № 29. (in Russian)
27. Pyurveyev S.S., Belyayeva I.V., Brus T.V. i dr. Vliyaniye sochetannogo deystviya bol'shikh doz glyukokortikoidov i prenatal'noy patologii beremennosti na potomstvo. [Influence of the combined action of high doses of glucocorticoids and prenatal pathology of pregnancy on the offspring]. *Detskaya meditsina Severo-Zapada*. 2020; 8(1): 301–2. (in Russian)
28. Trashkov A.P., Brus T.V., Vasil'yev A.G. i dr. Dinamika pokazateley krasnoy krovi u kryss s nealkogol'noy zhirovoy boleznyu pecheni i vozmozhnosti yeye korrektsii. [Dynamics of indicators of red blood in rats with non-alcoholic fatty liver disease and the possibility of its correction]. *Klinicheskaya patofiziologiya*. 2017; 23(3): 66–72. (in Russian)
29. Trashkov A.P., Vasil'yev A.G., Tsygan N.V. i dr. Antitromboticheskaya terapiya v onkologii: sovremennoye sostoyaniye problemy i nereshennyye voprosy. [Antithrombotic therapy in oncology: current state of the problem and unresolved issues]. *Pediatr*. 2012; 3(2): 3–19. (in Russian)
30. Trashkov A.P., Panchenko A.V., Kayukova Ye.S. i dr. Leykemiya R-388 u myshey linii CDF1 kak test-sistema opukhol'-assotsiirovannogo neoangiogeneza i giperkoagulyatsii. [P-388 leukemia in CDF1 mice as a test system for tumor-associated neoangiogenesis and hypercoagulation]. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2014; 158(10): 500–2. (in Russian)
31. Tyukavin A.I., Vasil'yev A.G., Petrishchev N.N. Patologiya. [Pathology]. Moskva; 2012. (in Russian)
32. Khaytsev N.V., Vasil'yev A.G., Trashkov A.P. i dr. Vliyaniye vozrasta i pola na kharakter otvetnykh reaktsiy belykh kryss pri deystvii khronicheskoy gipoksicheskoj gipoksii. [Influence of age and sex on the nature of responses in white rats under the influence of chronic hypoxic hypoxia]. *Pediatr*. 2015; 6(2): 71–7. (in Russian)
33. Tsygan N.V., Oдинак М.М., Пелешок А.С. i dr. Neyroprotektsiya pri rekonstruktivnykh operatsiyakh na duge aorty. [Neuroprotection in reconstructive operations on the aortic arch]. *Vestnik Rossiyskoy Voenno-meditsinskoy akademii*. 2012; 2(38): 119–27. (in Russian)
34. Shemerovskiy K.A., Brus T.V., Pyurveyev S.S. Sindrom bradienterii oslablyayet immunnuyu sistemu i ponizhayet uroven' kachestva zhizni studentov-pediatrov. [Bradyenteria syndrome weakens the immune system and lowers the quality of life of pediatric students]. *Rossiyskiye biomeditsinskiye issledovaniya*. 2021; 6(2): 15–9. (in Russian)
35. Åberg F., Puukka P., Salomaa V. et al. Risks of light and moderate alcohol use in fatty liver disease: follow-up of population cohorts. *Hepatology*. 2020; 71(3): 835–48.

## REFERENCES

1. Balakina M.Ye., Degtyareva Ye.V., Nekrasov M.S. i dr. Vozdeystviye rannego postnatal'nogo stressa na psikhoemotsional'noye sostoya-

12. Alwis N.M.W., Day C.P. Nonalcoholic fatty liver disease. The mist gradually clears. *J. Hepatol.* 2008; 48: 104–12.
13. Boyle M., Masson S., Anstee Q.M. The bidirectional impacts of alcohol consumption and the metabolic syndrome: cofactors for progressive fatty liver disease. *J. Hepatol.* 2018; 68(2): 251–67.
14. Chang Y., Cho Y.K., Kim Y. et al. Nonheavy drinking and worsening of noninvasive fibrosis markers in nonalcoholic fatty liver disease: a cohort study. *Hepatology.* 2019; 69(1): 64–75.
15. Cotrim H.P., Parise E.R., Oliveira C.P. et al. Nonalcoholic fatty liver disease in Brazil. Clinical and histological profile. *Ann. Hepatol.* 2011; 10(1): 33–7.
16. Lassale C., Tzoulaki I., Moons K.G.M. et al. Separate and combined associations of obesity and metabolic health with coronary heart disease: a pan-European case-cohort analysis. *Eur. Heart J.* 2018; 39(5): 397–406.
17. Lomonaco R. Effect of adipose tissue insulin resistance on metabolic parameters and liver histology in obese patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2012; 55: 1389–97.
18. Mitra S., De A., Chowdhury A. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver diseases. *Transl. Gastroenterol. Hepatol.* 2020; 5. ID 16.
19. Panchenko A.V., Popovich I.G., Egormin P.A. et al. Biomarkers of aging, life span and spontaneous carcinogenesis in the wild type and HER-2 transgenic FVB/N female mice. *Biogerontology.* 2016; 17(2): 317–24.
20. Rich N.E., Oji S., Mufti A.R. et al. Racial and ethnic disparities in nonalcoholic fatty liver disease prevalence, severity, and outcomes in the United States: a systematic review and meta-analysis. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2018; 16(2): 198–210.
21. Romero-Gomez M., Zelber-Sagi S., Trenell M. Treatment of NAFLD with diet, physical activity and exercise. *J. Hepatol.* 2017; 67(4): 829–46.
22. Winkler T.W., Gunther F., Hollerer S. et al. A joint view on genetic variants for adiposity differentiates subtypes with distinct metabolic implications. *Nat. Commun.* 2018; 9(1).
23. Younossi Z.M. Non-alcoholic fatty liver disease — a global public health perspective. *J. Hepatol.* 2019; 70(3): 531–44.
24. Younossi Z.M., Stepanova M., Ong J. et al. Effects of alcohol consumption and metabolic syndrome on mortality in patients with non-alcoholic and alcohol-related fatty liver disease. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2018; 17(8): 1625–33.e1.

## СИСТЕМНЫЙ ОСТЕОПОРОЗ И ПАТОЛОГИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ ПАРОДОНТА: ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ СВЯЗИ, СТАТИСТИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯЦИИ, ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ

© Михаил Маркович Забежинский<sup>1</sup>, Максим Игоревич Музыкин<sup>2</sup>,  
Андрей Константинович Иорданишвили<sup>2</sup>, Анна Валентиновна Васильева<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет. 194100, Санкт-Петербург, Литовская ул., д. 2

<sup>2</sup> Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова. 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6

**Контактная информация:** Михаил Маркович Забежинский — к.м.н., доцент кафедры патологической физиологии с курсом иммунопатологии. E-mail: mih.zabzhinsky@yandex.ru

Поступила: 02.06.2021

Одобрена: 12.08.2021

Принята к печати: 17.09.2021

---

**Резюме:** Системный остеопороз (СОП) является одним из социально значимых заболеваний, приводящих к возникновению патологических переломов, повышающих уровень нетрудоспособности, инвалидности и смертности. В большинстве случаев диагноз СОП ставится с опозданием, т.е. после возникновения патологического перелома. Актуальным является поиск маркеров для раннего выявления СОП. Поражение костной ткани пародонта патогенетически тесно связано с СОП. Об этом свидетельствуют данные экспериментальных и многочисленных клинико-эпидемиологических исследований. Патология костной ткани пародонта может являться следствием СОП и, в свою очередь, по механизму положительной обратной связи утяжелять его течение. Выявление стоматологом патологии костной ткани пародонта, особенно у женщин постменопаузального возраста, может рассматриваться как маркер, позволяющий заподозрить СОП. Актуальной проблемой является отсутствие в современных руководствах по СОП упоминаний о патологии зубочелюстной системы и патогенетических связях с СОП. Для улучшения ранней диагностики СОП необходимо наладить более тесное взаимодействие врачей-стоматологов и врачей других специальностей, занимающихся СОП.

**Ключевые слова:** системный остеопороз; костная ткань пародонта; минеральная плотность кости; экспериментальные модели; патогенетические связи.

---

## SYSTEMIC OSTEOPOROSIS AND PERIODONTAL BONE PATHOLOGY: PATHOGENETIC RELATIONSHIPS, STATISTICAL CORRELATIONS, SIGNIFICANCE FOR CLINICAL PRACTICE

© Mikhail M. Zabzhinsky<sup>1</sup>, Maxim I. Muzikin<sup>2</sup>, Andrey K. Iordanishvili<sup>2</sup>, Anna V. Vasilieva<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Saint-Petersburg State Pediatric Medical University. 194100, Saint-Petersburg, Litovskaya str., 2

<sup>2</sup> Military Medical Academy named after S.M. Kirov. 194044, Saint-Petersburg, Academician Lebedev str., 6

**Contact information:** Mikhail M. Zabzhinsky — Candidate of Sciences in Medicine, Associate Professor of the Department of Pathological Physiology with the course of Immunopathology. E-mail: mih.zabzhinsky@yandex.ru

Received: 02.06.2021

Revised: 12.08.2021

Accepted: 17.09.2021

---

**Abstract:** Systemic osteoporosis (OP) is one of the socially significant diseases leading to the occurrence of pathological fractures that increase the level of disability and mortality. In most cases, the diagnosis of OP is made late, i.e. after the occurrence of a pathological fracture. It is highly important to search for markers for early detection of OP. Periodontal bone damage is pathogenetically closely related to systemic OP. This is evidenced by the data of experimental

and numerous clinical and epidemiological studies. Pathology of periodontal bone tissue can be a consequence of OP and, in turn, by the mechanism of positive feedback to weigh down its course. Detection by the dentist of the pathology of the bone tissue of periodont, especially in postmenopausal women, can be considered as a marker that allows you to suspect systemic OP. An urgent problem is the absence in modern manuals and guidelines on OP of references to the pathology of the dental and jawbone system and pathogenetic links with OP. To improve the early diagnosis of OP, it is necessary to establish closer interaction between dentists and doctors of other specialties treating OP.

**Key words:** systemic osteoporosis; periodontal bone tissue; bone mineral density; experimental models; pathogenetic relationships.

## ВВЕДЕНИЕ

Системный остеопороз (СОП), характеризующийся снижением минеральной плотности костей (МПК), нарушением архитектоники костной ткани и возникновением патологических (низкоэнергетических) переломов, является важной проблемой мирового здравоохранения. По данным ВОЗ, более 9 млн человек в мире ежегодно страдают от патологических переломов, среди них 1,6 млн составляют переломы бедра [45, 49]. 20–30% пациентов с переломами бедренной кости умирают в течение 12 месяцев с момента перелома [45]. Отечественные исследователи отмечают высокую распространенность СОП в Российской Федерации: около 34% женщин и 27% мужчин старше 50 лет страдают СОП [3, 11, 44]. Наиболее тяжелые медико-социальные последствия обусловлены переломами проксимального отдела бедренной кости [3, 4, 6].

До конца не решен вопрос своевременной диагностики СОП. Специалисты, занимающиеся лечением данной патологии, подчеркивают, что существует проблема недостаточной информированности о признаках заболевания не только среди пациентов, но и среди медицинского персонала. Люди, страдающие СОП, владеют малым количеством информации о симптомах заболевания и не предъявляют каких-либо специфических жалоб до возникновения патологических переломов, которые являются уже тяжелыми осложнениями заболевания [3, 8, 12]. Таким образом, диагноз СОП во многих случаях ставится не только с опозданием, а зачастую уже после развития тяжелых осложнений. В связи с этим весьма актуальным является поиск диагностических маркеров, позволяющих заподозрить СОП на ранних этапах, еще до возникновения патологических переломов.

В современной литературе представлена идея о том, что костная ткань челюстей может служить своего рода маркером СОП, а клинические проявления патологии со стороны комплекса тканей фиксирующего аппарата зуба (пародонта) — одними из признаков заболевания. В таком случае врач-стоматолог мог бы стать одним из специалистов, направляющих пациента на обследование в связи с подозрением на СОП [51].

Костная ткань челюстей, а именно базальная ее часть, образующая тело верхней и нижней челюсти, принципиально не отличается от костной системы в целом. Альвеолярный

отросток (часть) челюсти, который формируется во время прорезывания зубов и содержит альвеолу, а также пучковая кость, выстилающая альвеолярную лунку и формирующая гребень щечной костной пластинки и входящая в состав пародонта, т.к. соединяется с периодонтальными волокнами (шарпеевыми волокнами), напротив, в связи со своими особенностями отличаются по строению. В состав пародонта входит комплекс тканей, окружающих зуб и удерживающих его в альвеоле: десна, периодонт, цемент, костная стенка альвеолы. Поражения пародонта, сопровождающиеся преобладанием резорбтивных процессов в костной ткани, широко распространены в стоматологической практике. По данным отечественных исследователей, встречаемость патологии пародонта среди населения РФ составляет более 80% и с возрастом только увеличивается [14, 15]. Воспалительные и дистрофические заболевания пародонта — пародонтит и пародонтоз — ведут к утрате альвеолярной костной ткани, увеличению степени подвижности зубов и являются основной причиной их утраты.

Врачи-стоматологи рассматривают СОП как фактор риска развития патологии пародонта и рекомендуют применять лекарственные средства, влияющие на метаболизм костной ткани в лечении хронического генерализованного пародонтита, признавая единые патогенетические связи между этими двумя заболеваниями [13, 15, 16, 26, 27, 34, 39, 43, 50]. В то же время может вызвать удивление факт, что в современных руководствах и рекомендациях по остеопорозу [3, 12] отсутствует упоминание о патологии пародонта в перечне заболеваний, ассоциированных с остеопорозом (единственным исключением является, пожалуй, упоминание о возможном некрозе костей челюстей при назначении бисфосфонатов), что может быть связано с широким распространением заболеваний пародонта во всех возрастных группах и наличием таких форм заболевания, которые зачастую встречаются в молодом и среднем возрасте. Следовательно, вопрос о взаимосвязях СОП и воспалительной патологии пародонта, по крайней мере для большей части специалистов нестоматологического профиля, остается открытым.

Настоящий обзор представляет собой попытку проанализировать данные научной литературы о патогенетических взаимосвязях СОП и генерализованных воспалительных поражений пародонта.

## ЭТИОЛОГИЯ И ПАТОГЕНЕЗ СОП И ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ФИКСИРУЮЩЕГО АППАРАТА ЗУБА

Системный остеопороз относится к так называемым мультифакториальным заболеваниям и характеризуется системным поражением костной ткани с преобладанием процессов резорбции над остеосинтезом. Костная ткань альвеолярного отростка (части) челюсти, содержащая зубы, имеет некоторые особенности строения, в частности [14] отличается более активным метаболизмом, хотя и изменяется и перестраивается в соответствии с процессами адаптационной реорганизации — моделирования и ремоделирования [1]. Процесс моделирования, в результате которого в зависимости от роста организма происходит изменение формы и размеров кости, включает в себя формирование различных участков резорбции и образования костной ткани. Процесс ремоделирования — специфическая непрерывная последовательность циклов резорбции и костеобразования, в ходе которых происходит замещение ранее существовавшей кости, сопровождаемое изменением ее свойств, то есть удаление «низкоэффективной» кости и замена ее новой, полностью функциональной и отражающей потребности новых условий костной тканью [7]. Клеточная деятельность остеокластов и остеобластов при моделировании в основном такая же, как и при ремоделировании. Тем не менее в этом случае костеобразование и резорбция несбалансированы, что служит причиной изменений в микроархитектуре и росте костной ткани под действием изменяющихся факторов внешней среды. Дисбаланс, возникающий во время регуляции цикла ремоделирования, может привести к патологическим нарушениям, в частности — к СОП [17, 18, 24, 48, 49].

На молекулярном уровне при всем многообразии факторов, влияющих на метаболизм костной ткани (в том числе эндокринных, иммунных, нутритивных и т.д.), этот дисбаланс выражается в нарушении равновесия в системе двух групп регуляторов процесса «резорбция — костеобразование».

К конечным ключевым факторам, регулирующим остеокластогенез, относятся прежде всего 3 молекулы: RANKL (лиганд рецептора активатора ядерного фактора каппа В), RANK (рецептор активатора ядерного фактора каппа В) и OPG (остеопротегерин) [2, 20, 24, 35, 55]. RANKL — член суперсемейства фактора некроза опухолей (TNF), который продуцируется клетками линии остеобластов и осуществляет свои биологические эффекты через связывание с RANK-рецепторами на остеокластах. Результатом этого взаимодействия является быстрая дифференцировка предшественников остеокластов костного мозга в зрелые остеокласты (пермиссивную роль здесь играет макрофагальный колониестимулирующий фактор), а при больших концентрациях RANKL — увеличение функциональной активности и ограничение апоптоза остеокластов, что в конечном итоге приводит к увеличению резорбции костной ткани [46, 49]. OPG является членом суперсемейства TNF и также секретируется остеобластами. OPG связывается с RANKL и нейтрализует

его, предотвращая активацию остеокластогенеза. Таким образом, активность остеокластов определяется главным образом балансом RANKL и RANK как факторов, стимулирующих остеокластогенез, с одной стороны, и OPG (остеопротегерин) как фактором, ингибирующим остеокластогенез, с другой. Дефицит эстрогенов, возникающий в менопаузе, глюкокортикоиды, цитокины (IL-1, TNF, IL-6, IL-11), образующиеся при воспалении, могут нарушать баланс вышеназванных регуляторов в пользу преобладания RANKL и RANK и приводить к развитию СОП [35].

Наряду с регуляторами остеокластогенеза, важнейшую роль в поддержании динамического баланса процессов синтеза и резорбции кости играют молекулярные механизмы регуляции остеобластогенеза. Среди этих механизмов в последние годы наибольшее внимание исследователей привлекает канонический Wnt/ $\beta$ -катенин сигнальный путь [5, 9, 10, 38, 49]. Оказалось, что целый ряд генетических дефектов этого пути может приводить к СОП, агенезии зубов и другим патологиям [9]. Активация этого пути приводит к индукции остеобластогенеза, подавлению апоптоза остеобластов и остеоцитов, т.е. в целом к усилению анаболических процессов в костной ткани. К важным антагонистам-ингибиторам Wnt/ $\beta$ -катенин канонического сигнального пути относится склеростин, продуцируемый остеоцитами [10]. Показано, что дефицит половых гормонов, гипергликемия, терапия глюкокортикоидами повышают уровень склеростина в сыворотке крови и, таким образом, создают предпосылки для развития СОП [10].

Представляется вполне закономерным, что все факторы риска, изменяющие метаболизм кости и повышающие вероятность возникновения СОП (дефицит эстрогенов, хронические воспалительные процессы, гиперкортицизм, дефицит Са и витамина D и др.), будут вызывать схожие изменения и в костной ткани альвеолярного отростка (части) челюсти [54]. Однако важным отличием этиопатогенеза хронических заболеваний пародонта является ключевое значение в их развитии микроорганизмов, вегетирующих в зубной бляшке (*Porphyromonas gingivalis*, *Tanerella forsythensis*, *Treponema denticola*). Продукты жизнедеятельности бактерий провоцируют хроническое воспаление с формированием лимфоцитами воспалительного очага RANKL, что может приводить к усилению резорбтивных процессов в околозубной костной ткани [21–23, 41, 45]. Наличие микроорганизмов, как основного этиологического фактора, приводящего к развитию острых и хронических заболеваний пародонта, делает взаимосвязь СОП и патологии альвеолярной костной ткани далеко неоднозначной. Как ранее уже было отмечено, генерализованный пародонтит может возникать и при отсутствии у пациента СОП, хотя сочетание обоих заболеваний, безусловно, носит взаимноотягчающий характер. Можно полагать, что при системном остеопорозе, в том числе наиболее часто встречающемся — постменопаузальном, в результате действия таких факторов, как гипоестрогемия, будет усиливаться резорбция и в околозубной костной ткани, приводя к патологической подвижности зубов, провоцируя совместно с инфекционными

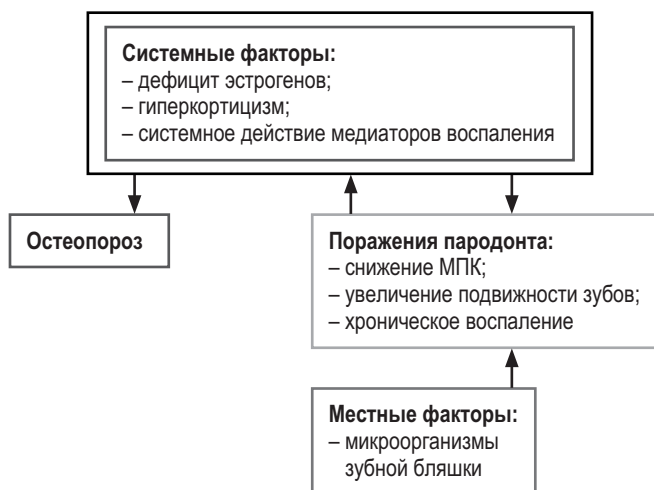


Рис. 1. Схема патогенетических взаимосвязей остеопороза и патологии пародонта

агентами ротовой полости альтерацию и хроническое воспаление фиксирующего аппарата зуба [15, 19, 57]. Хроническое воспаление, в свою очередь, благодаря системному действию цитокинов, будет усиливать СОП, замыкая порочный круг. Таким образом, патогенетически СОП и генерализованный пародонтит тесно связаны между собой и способны взаимно усиливать друг друга. Мы предлагаем краткую схему, иллюстрирующую эти взаимосвязи (рис. 1).

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ, ДОКАЗЫВАЮЩИЕ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ СВЯЗИ ОСТЕОПОРОЗА, ХРОНИЧЕСКОГО ГЕНЕРАЛИЗОВАННОГО ПАРОДОНТИТА И ПАРОДОНТОЗА

В изучении патогенетических связей СОП и патологии костной ткани пародонта наибольший интерес представляют экспериментальные модели СОП на животных [58, 59]. В частности, у овец остеопороз моделируется с помощью овариэктомии. Через 12 месяцев после удаления яичников у экспериментальных животных, наряду с проявлениями СОП, наблюдаются симптомы пародонтоза, сопровождающегося разрушением фиксирующего аппарата зуба. Модели можно усилить введением глюкокортикоидов и назначением диеты с низким содержанием Са и витамина D [29].

В эксперименте на крысах было показано, что удаление яичников само по себе не приводит к выраженной патологии пародонта. Однако, если у крыс смоделировать развитие пародонтита путем фиксации шовной нити в зубодесневой борозде (в области первых и вторых моляров верхней челюсти), то проявления пародонтита, в частности поражение костной ткани верхней челюсти (снижение МПК, высоты альвеолярного гребня, нарушение трабекулярной структуры), значительно усиливалось в группе животных с удаленными яичниками по сравнению с группами без овариэктомии. По мнению исследова-

вателей, результаты экспериментального моделирования на крысах подтверждают представления о том, что постменопаузальный СОП способствует более выраженному поражению пародонтальных тканей и является фактором риска развития хронических заболеваний пародонта [62].

В экспериментальной работе американских исследователей на комбинированной модели пародонтита и постменопаузального СОП у мышей изучалось влияние экспериментального пародонтита на снижение МПК нижнечелюстной и бедренной кости. Пародонтит моделировался наложением лигатур в зубодесневую борозду первых моляров нижней челюсти и внедрением инфекционного агента — *Porphyromonas gingivalis*. СОП моделировали удалением яичников. Через 48 дней с помощью трехмерной микрокомпьютерной томографии анализировали МПК бедренной кости и нижней челюсти. Было показано, что в группе мышей с комбинацией пародонтита и СОП потеря МПК бедренной кости и нижней челюсти значительно выше, чем в изолированных группах мышей с овариэктомией и мышей с периодонтитом. Описанные экспериментальные данные подтверждают, что пародонтит может рассматриваться как фактор риска при постменопаузальном СОП [25].

### ИССЛЕДОВАНИЯ СТАТИСТИЧЕСКИХ КОРРЕЛЯЦИЙ МЕЖДУ ОСТЕОПОРОЗОМ И ХРОНИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПАРОДОНТА

Не следует забывать, что обнаружение статистических корреляций само по себе не свидетельствует о наличии причинно-следственных (патогенетических) связей. Эти связи выявляются прежде всего в экспериментальных и клинико-аналитических исследованиях. Статистические данные могут рассматриваться как повод к поиску патогенетических связей или как дополнительное подтверждение их наличия.

В целом ряде современных исследований были выявлены статистически значимые корреляции между патологией костной ткани челюстно-лицевой области и снижением МПК скелета. В исследовании 108 женщин постменопаузального возраста, являющихся уроженками Турции, была выявлена корреляция между снижением МПК ткани челюстей и снижением МПК поясничного отдела позвоночника, что позволило авторам рассматривать патологию костной ткани ротовой полости как предиктор СОП [30]. В других исследованиях обнаруживалась корреляционная взаимосвязь между высотой альвеолярного гребня [47], высотой межзубной костной перегородки [56, 61], индексом Фукса [15], мандибулярным кортикальным индексом [42], шириной кортикального слоя [60] и другими показателями, так или иначе характеризующими структурные изменения в фиксирующем аппарате зуба, и МПК скелета у женщин постменопаузального возраста. Фактически было показано, что патологические изменения в костной ткани челюстей во многом совпадают с патологическими изменениями костей скелета при постменопаузальном СОП.

В то же время в ряде исследований с участием мужчин [40], а также женщин пременопаузального возраста [33] не было отмечено ассоциации между патологией пародонта и снижением МПК скелета. Представляет интерес, что в исследовании 1329 женщин в возрасте 67±7 лет корреляции между поражениями пародонта и СОП обнаруживались только после исключения больных с твердыми поддесневыми зубными отложениями [28].

В обзоре 2010 года [45] приводятся данные 16 исследований, проведенных в разных регионах мира (Япония, Турция, США, Европейские страны) за период с 1994 по 2009 годы и посвященных поиску корреляций между СОП и потерей зубов. При всей очевидной упрощенности данного подхода (понятно, что потеря зубов может быть обусловлена целым рядом причин, не связанных с воспалительной резорбцией костной ткани пародонта, хотя заболевания пародонта и являются основной причиной их прижизненной утраты) в 10 исследованиях из 16 была выявлена корреляция между уменьшением количества зубов и снижением МПК скелета [32, 36, 37, 52, 53].

В системном обзоре 2017 года [31] анализировались клинические исследования, посвященные поиску статистических взаимосвязей остеопороза и патологии пародонта у женщин постменопаузального возраста. В 10 исследованиях из 15, проведенных за период с 1990 по 2015 год, была выявлена статистически значимая ассоциация между СОП и воспалительной и дистрофической патологией пародонта. Авторы обзора отмечают различные подходы разных групп исследователей к оценке патологии пародонта, что весьма затрудняет проведение метаанализа и во многом объясняет разброс результатов.

В последнем метаанализе 2021 года [63] на основании 23 исследований (12 — когортные, 7 — кросс-секционные, 4 — случай-контроль), проведенных в 1997–2015 годах в различных странах мира, была выявлена очевидная связь СОП с пародонтитом (ОШ 1,96; 95% ДИ 1,50–2,54). При стратификации участников по полу было обнаружено, что женщины с СОП имеют более высокий риск пародонтита (ОШ 2,24; 95% ДИ 1,52–3,30) по сравнению с мужчинами (ОШ 1,61; 95% ДИ 1,04–2,50).

С точки зрения подтверждения патогенетических связей ОП и пародонтита представляют интерес многочисленные литературные данные, свидетельствующие об успешном применении лекарственных препаратов (бисфосфонатов, эстрогенов, витамина D, препаратов Ca), используемых при СОП, в комплексном лечении патологии пародонта [34, 39, 50].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные в современной научной литературе клинические данные и экспериментальные модели свидетельствуют о тесной патогенетической связи патологических процессов при СОП, а также воспалительных и дистрофических заболеваний пародонта. Учитывая тот факт, что в

этиопатогенезе заболеваний пародонта основополагающую роль играют местные факторы, а именно патогенные микроорганизмы, вегетирующие в зубной бляшке, эти взаимосвязи носят сложный характер и не всегда могут быть отражены в виде очевидных статистических корреляций.

Варианты ассоциации СОП и поражений тканей пародонта определяются именно различным балансом местных и системных факторов. Так, при преобладании местных патогенных факторов ротовой полости патология пародонта может значительно опережать системное поражение костной ткани; при превалировании системных факторов, таких как дефицит эстрогенов, системный СОП будет опережать поражения пародонта. Однако с точки зрения общей патологии оба процесса безусловно связаны между собой, могут взаимно отягощать друг друга и должны учитываться как врачами-стоматологами, так и врачами, занимающимися лечением СОП.

В клинической практике весьма возможны ситуации, когда именно стоматолог может впервые заподозрить наличие СОП у пациента с воспалительными и дистрофическими заболеваниями пародонта. Основываясь на данных статистических исследований, показавших наиболее значимые взаимосвязи СОП и патологии пародонта у женщин постменопаузального возраста, можно полагать, что именно у этой категории пациентов стоматологическое обследование, в частности рентгенологическое исследование костной ткани челюстей [51], может способствовать раннему выявлению СОП.

Представляется важным наладить более тесное взаимодействие в клинической практике врачей-эндокринологов, травматологов, имеющих дело с СОП, и врачей-стоматологов. Результатом такого междисциплинарного подхода может стать не только раннее выявление СОП, но и в большей мере патогенетически обоснованная терапия проявлений СОП и/или сопутствующей патологии с целью повышения качества и эффективности лечения пациента.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Аврунин А.С., Докторов А.А. Биологически целесообразные пути профилактики и лечения потери костной массы. Травматология и ортопедия России. 2015; 4: 131–45.
2. Алексеев В.В., Алипов А.Н., Андреев В.А. и др. Медицинские лабораторные технологии. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013.
3. Беневоленская Л.И., Лесняк О.М. Клинические рекомендации. Остеопороз. 2-е изд., перер. ГЭОТАР-Медиа; 2010.
4. Булкина Н.В., Ведяева А.П., Савина Е.А. Коморбидность заболеваний пародонта и соматической патологии. Медицинский вестник Северного Кавказа. 2012; 3: 110–15.
5. Гребенникова Т.А., Белая Ж.Е., Рожинская Л.Я., Мельниченко Г.А. Канонический сигнальный путь Wnt/β-катенин: от истории открытия до клинического применения. Терапевтический архив. 2016; 88(10): 74–81.
6. Гулько М.В. Особенности диагностики и комплексной терапии при использовании метода дистальной имплантации у больных

- системным остеопорозом. Автореферат диссертации на соискание ученой степени к.м.н. М.; 2009.
7. Дедух Н.В., Пошелок Д.М., Малишкіна С.В. Моделирование та ремоделирования кістки (огляд літератури). Український морфологічний альманах. 2014; 1: 107–11.
  8. Клинические рекомендации. Остеопороз. 2021. (24.04.2021) — Утверждены Минздравом.
  9. Майлян Э.А. Мультифакториальность этиопатогенеза остеопороза и роль генов канонического Wnt-сигнального пути. Остеопороз и остеопатии. 2018; 2: 15–9.
  10. Мамедова Е.О., Гребенникова Т.А., Белая Ж.Е., Рожинская Л.Я. Антитела к склеротину как новая анаболическая терапия остеопороза. Остеопороз и остеопатии. 2018; 21(3): 21–9.
  11. Марченкова Л.А., Макарова Е.В., Герасименко М.Ю. Распространенность остеопороза, ассоциирующихся с ним переломов и уровня информированности по проблеме среди пациентов, проходящих медицинскую реабилитацию. Лечащий врач. 2020; 2: 54–7.
  12. Мельниченко Г.А., Белая Ж.Е., Рожинская Л.Я., Лесняк О.М. и др. Федеральные клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике остеопороза. Проблемы эндокринологии. 2017; 63(6): 392–426.
  13. Музыкин М.И., Иорданишвили А.К. Модель саногенеза постэкстракционной регенерации костной ткани челюстей. Экология человека. 2020; 8: 40–8. DOI: 10.33396/1728-0869-2020-8-40-48.
  14. Намханов В.В., Писаревский Ю.Л., Плеханов А.Н., Товаршинов А.И. Состояние зубочелюстной системы и тканей пародонта у пациентов с системным остеопорозом. Вестник Бурятского государственного университета. 2015; 12: 63–7.
  15. Островская Л.Ю., Ханина А.И. Механизмы формирования и возможности профилактики хронического пародонтита у женщин в постменопаузальном периоде. Здоровье и образование в XXI веке. 2011; 13(1): 21–2.
  16. Присяжнюк О.В., Иорданишвили А.К., Музыкин М.И. Стоматологическая реабилитация при заболеваниях пародонта и слизистой оболочки полости рта на фоне сахарного диабета 2 типа. Пародонтология. 2020; 25(1): 27–31. DOI: 10.33925/1683-3759-2020-25-1-27-31.
  17. Риггз Б., Мелтон Л. Остеопороз: этиология, диагностика, лечение. СПб.: Невский диалект; 2000.
  18. Рожинская Л.Я. Системный остеопороз (патогенез, диагностика, лечение). Мокеев: Крон-пресс; 2000.
  19. Соловьева-Савоярова Г.Е., Дрожжина В.А. Эстрогены и некариозные поражения зубов. Издательство СЗГМУ им. И.И.Мечникова. 2012.
  20. Тимофеев Е.В., Белоусова Т.И., Вютрих Е.В. и др. Минеральная плотность костной ткани и лабораторные маркеры костного метаболизма у молодых мужчин с марфаноидной внешностью. Педиатр. 2017; 8(6): 42–9. DOI: 10.17816/PED8642-49.
  21. Трашков А.П., Брус Т.В., Васильев А.Г. и др. Динамика показателей красной крови у крыс с неалкогольной жировой болезнью печени и возможности ее коррекции. Клиническая патофизиология. 2017; 23(3): 66–72.
  22. Трашков А.П., Васильев А.Г., Цыган Н.В. и др. Антитромботическая терапия в онкологии: современное состояние проблемы и нерешенные вопросы. Педиатр. 2012; 3(2): 3–19.
  23. Цыган Е.Н., Деев Р.В. Морфофункциональные основы остеопороза. СПб.: ВМедА; 2007.
  24. Ярмолинская М.И. Постменопаузальный остеопороз. Клиника, диагностика, профилактика, лечение. Учебное пособие. М.: Серебряные нити; 2014.
  25. Anbinder A.L., Moraes R.M., Lima G.M. et al. Periodontal disease exacerbates systemic ovariectomy-induced bone loss in mice. Bone. 2016; 83: 241–7.
  26. Aljehani Y.A. Risk Factors of Periodontal Disease: Review of the Literature. International Journal of Dentistry. 2014; 9. DOI: 10.1155/2014/182513.
  27. Basha N. Osteoporosis and periodontitis. OA Dentistry. 2014; 2(1): 2.
  28. Brennan R.M., Genco R.J., Hovey K.M. et al. Clinical attachment loss, systemic bone density and subgingival calculus in postmenopausal women. J. Periodontol. 2007; 78: 2104–11.
  29. Dvorak G., Reich K. et al. Periodontal histomorphometry and status of aged sheep subjected to ovariectomy, malnutrition and glucocorticoid applications. Arch Oral Biol. 2009; 54: 857–63.
  30. Erdogan O. et al. Dental and radiographic findings as predictors of osteoporosis in postmenopausal women. Geriatr Gerontol Int. 2009; 9: 155–64.
  31. Goyal L., Goyal T., Gupta N.D. Osteoporosis and periodontitis in postmenopausal women. A systematic review. J Mid-life Health. 2017; 8: 151–8.
  32. Gur A., Nas K., Kayhan O. et al. The relation between tooth loss and bone mass in postmenopausal osteoporotic women in Turkey: a multicenter study. J Bone Miner Metab. 2003; 21: 43–7.
  33. Hattatoglu-Sonmez E., Gocke-Kutsal Y. et al. No alteration in bone mineral density in patients with periodontitis. J DentRes. 2008; 87: 79–83.
  34. Hildebolt C.F. et al. The pattern of alveolar crest height change in healthy postmenopausal women after 3 years of hormone/estrogen replacement therapy. J Periodontol. 2002; 73: 1279–84.
  35. Hofbauer L.C., Khosla S., Dunston C.R. et al. The Roles of Osteoprotegerin and Osteoprotegerin Ligand in Paracrine Regulation of Bone Resorption. J Bone Miner Res. 2000; 15: 2–12.
  36. Inagaki K., Kurosu Y., Yoshinari et al. Efficacy of periodontal disease and tooth loss to screen for low bone mineral density in Japanese women. Calcif Tissue Int. 2005; 77: 9–14.
  37. Inagaki K., Kurosu Y., Kamiya T. et al. Low metacarpal bone density, tooth loss and periodontal disease in Japanese women. J Dent Res. 2001; 80: 1818–22.
  38. Issack P.S., Helfet D.L., Lane J.M. Role of Wnt Signaling in Bone Remodeling and Repair. HSS J. 2008; 4(1): 66–70.
  39. Jeffcoat M.K., Cizz G., Shih W.J. et al. Efficacy of bisphosphonates for the control of alveolar bone loss in periodontitis. J Int Acad Periodontol. 2007; 9: 70–6.
  40. Jonasson G., Bankvall G., Kiliardis S. Estimation of skeletal bone mineral density by means of the trabecular pattern of the alveolar bone, its interdental thickness, and the bone mass of the mandible. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2001; 92: 346–52.

41. Kawai T., Matsuyama T., Hasokawa Y. et al. B and T lymphocytes are the primary sources of RANKL in the bone resorptive lesion of periodontal disease. *Am J Pathol.* 2006; 169: 987–98.
42. Klemetti E., Kolmakov S., Kroger H. Pantomography in assessment of the osteoporosis risk group. *Eur J Oral Sci.* 1994; 102: 68–72.
43. Krall E.A., Wehler C., Garcia R.I., Harris S.S., Dawson-Hughes B. Calcium and vitamin D supplements reduce tooth loss in the elderly. *Am J Med* 2001; 111; 452–6.
44. Lesnyak O., Ershova O., Belova K. et al. Epidemiology of fracture on the Russian Federation and the development of a FRAX model. *Arch Osteoporos.* 2012, 7(1–2): 67–73.
45. Megson E. et al. Relationship between periodontal disease and osteoporosis. *Int J Evid Healthc.* 2010; 8: 129–39.
46. Panchenko A.V., Popovich I.G., Egormin P.A. et al. Biomarkers of aging, life span and spontaneous carcinogenesis in the wild type and HER-2 transgenic FVB/N female mice. *Biogerontology.* 2016; 17(2): 317–24.
47. Payne J.B., Reinhardt R.A., Nummikoski P.V., Patil K.D. Longitudinal alveolar bone loss in postmenopausal osteoporoticosteopenic women. *Osteoporos Int.* 1999;10: 34–40.
48. Persson R.E., Hollender L.G., Powell L.V. et al. Assessment of periodontal conditions and systemic disease in older subjects: I. Focus on osteoporosis. *J Clin Periodontol.* 2002; 29: 796–802.
49. Rachner T.D., Khosla S., Hofbauer L.C. Osteoporosis: now and the future. *Lancet.* 2011; 377(9773): 1276–87.
50. Ronderos M., Jacobs D.R., Himes J.H., Pihlstrom B.L. Associations of periodontal disease with femoral bone mineral density and estrogen replacement therapy: cross-sectional evaluation of US adults from NHANES III. *J Clin Periodontol.* 2000; 27: 778–86.
51. Taguchi A., Tanaka R., Kakimoto N. et al. Clinical guidelines for the application of panoramic radiographs in screening for osteoporosis. *Oral Radiol.* 2021; 3(2): 189–208.
52. Taguchi A., Tanimoto K., Sueti Y., Otani K., Wada T. Oral signs as indicators of possible osteoporosis in elderly women. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1995; 80: 612–16.
53. Taguchi A., Fujiwara S., Masunari N., Suzuki G. Self-reported number of remaining teeth is associated with bone mineral density of the femoral neck, but not of the spine, in Japanese men and women. *Osteoporosis Int.* 2004; 15: 842–6.
54. Tayeb Y., Goultshin J., Fogel M., Schwartz Z. The relationship between osteoporosis, osteopenia and periodontitis. *Refuat Hapeh Vehashinayim.* 2003; 20(1): 8–22.
55. Teitelbaum S.L. Bone resorption by osteoclasts. *Science.* 2000, 289: 1504–8.
56. Tezal M., Wactawski-Wende J., Grossi S.G. et al. The relationship between bone mineral density and periodontitis in postmenopausal women. *J Periodontol.* 2000; 71: 1492–8.
57. Tsolaki I.N., Madianos P.N., Vrotsos J.A. Outcomes of dental implants in osteoporotic patients. A literature review. *J Prosthodont.* 2009; 18: 309–23.
58. Turner A.S. Animal models of osteoporosis — necessity and limitations. *Eur Cell Mater.* 2001; 1: 66–81.
59. Turner A.S. The sheep as a model for osteoporosis in humans. *Vet J.* 2002; 163: 232–9.
60. Vlasidiadis K.Z., Skouteris C.A., Velegrakis G.A. et al. Mandibular radiomorphometric measurements as indicators of possible osteoporosis in postmenopausal women. *Maturitas.* 2007; 58: 226–35.
61. Wactawski-Wende J., Hausmann E., Hovey K. et al. The association between osteoporosis and alveolar crestal height in postmenopausal women. *J Periodontol.* 2005; 76: 2116–24.
62. Xu X.C., Chen H., Zhang X. et al. Effects of oestrogen deficiency on the alveolar bone of rats with experimental periodontitis. *Mol Med Rep.* 2015; 12(3): 3494–502.
63. Xu S., Zhang G., Guo J., Tan Y. Associations between osteoporosis and risk of periodontitis: A pooled analysis of observational studies. *Oral Diseases.* 2021; 27: 357–69.

## REFERENCES

1. Avrunin A.S., Doktorov A.A. Biologicheski tselesoobraznyye puti profilaktiki i lecheniya poteri kostnoy massy. [Biologically viable ways to prevent and treat bone loss]. *Travmatologiya i ortopediya Rossii.* 2015; 4: 131–45. (in Russian)
2. Alekseyev V.V., Alipov A.N., Andreyev V.A. i dr. Meditsinskiye laboratornyye tekhnologii. [Medical laboratory technologies]. Moskva: GEOTAR-Media Publ.; 2013. (in Russian)
3. Benevolenskaya L.I., Lesnyak O.M. Klinicheskiye rekomendatsii. Osteoporoz. [Osteoporosis]. 2-ye izd., perer. Moskva: GEOTAR-Media Publ.; 2010. (in Russian)
4. Bulkina N.V., Vedyayeva A.P., Savina Ye.A. Komorbidnost' zabolvaniy parodonta i somaticheskoy patologii. [Comorbidity of periodontal disease and somatic pathology]. *Meditsinskiy vestnik Severnogo Kavkaza.* 2012; 3: 110–15. (in Russian)
5. Grebennikova T.A., Belaya Zh.Ye., Rozhinskaya L.Ya., Mel'nichenko G.A. Kanonicheskiy signal'nyy put' Wnt/b-kenin: ot istorii otkrytiya do klinicheskogo primeneniya. [Canonical Wnt/ $\beta$ -catenin Signaling Pathway: From Discovery History to Clinical Application]. *Terapevticheskiy arkhiv.* 2016; 88(10): 74–81. (in Russian)
6. Gul'ko M.V. Osobennosti diagnostiki i kompleksnoy terapii pri ispol'zovanii metoda distal'noy implantatsii u bol'nykh sistemnym osteoporozom. [Features of diagnostics and complex therapy when using the method of distal implantation in patients with systemic osteoporosis]. *Avtoferat dissertatsii na soiskaniye uchenoy stepeni k.m.n.* Moskva; 2009. (in Russian)
7. Dédukh N.V., Poshelok D.M., Malishkina S.V. Modelyuvannaya ta remodelyuvannaya kistki (oglyad literaturi). [Models and remodeling of hands (look around the literature)]. *Ukrainskiy morfologichniy al'manakh.* 2014; 1: 107–11. (in Russian)
8. Klinicheskiye rekomendatsii. Osteoporoz. [Osteoporosis]. 2021. (24.04.2021) — Utverzhdeny Minzdravom. 2021. (24.04.2021) — Utverzhdeny Minzdravom. (in Russian)
9. Maylyan E.A. Mul'tifaktorial'nost' etiopatogeneza osteoporoz i rol' genov kanonicheskogo Wnt-signal'nogo puti. [Multifactoriality of the etiopathogenesis of osteoporosis and the role of genes in the canonical Wnt signaling pathway]. *Osteoporoz i osteopatii.* 2018; 2: 15–9. (in Russian)
10. Mamedova Ye.O., Grebennikova T.A., Belaya Zh.Ye., Rozhinskaya L.Ya. Antitela k sklerotinu kak novaya anabolicheskaya terapiya

- osteoporoza. [Antibodies to sclerotin as a new anabolic therapy for osteoporosis]. *Osteoporoz i osteopatii*. 2018; 21(3): 21–9. (in Russian)
11. Marchenkova L.A., Makarova Ye.V., Gerasimenko M.Yu. Rasprostranennost' osteoporoza, assotsiiruyushchikhsya s nim perelomov i urovnya informirovannosti po probleme sredi patsiyentov, prokhodyashchikh meditsinskuyu reabilitatsiyu. [Prevalence of osteoporosis, associated fractures and awareness of the problem among patients undergoing medical rehabilitation]. *Lechashchiy vrach*. 2020; 2: 54–7. (in Russian)
  12. Mel'nichenko G.A., Belaya Zh.Ye., Rozhinskaya L.Ya., Lesnyak O.M. i dr. Federal'nyye klinicheskiye rekomendatsii po diagnostike, lecheniyu i profilaktike osteoporoza. [Federal clinical guidelines for the diagnosis, treatment and prevention of osteoporosis]. *Problemy endokrinologii*. 2017; 63(6): 392–426. (in Russian)
  13. Muzykin M.I., Iordanishvili A.K. Model' sanogeneza postekstraktsionnoy regeneratsii kostnoy tkani chelyustey. [Model of sanogenesis of post-extraction jaw bone tissue regeneration]. *Ekologiya cheloveka*. 2020; 8: 40–8. DOI: 10.33396/1728-0869-2020-8-40-48. (in Russian)
  14. Namkhanov V.V., Pisarevskiy Yu.L., Plekhanov A.N., Tovarshinov A.I. Sostoyaniye zubochelyustnoy sistemy i tkaney parodonta u patsiyentov s sistemnym osteoporozom. [The condition of the dentition and periodontal tissues in patients with systemic osteoporosis]. *Vestnik Buryatskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2015; 12: 63–7. (in Russian)
  15. Ostrovskaya L.Yu., Khanina A.I. Mekhanizmy formirovaniya i vozmozhnosti profilaktiki khronicheskogo parodontita u zhenshchin v postmenopauzal'nom periode. [The mechanisms of formation and the possibility of preventing chronic periodontitis in women in the postmenopausal period]. *Zdorov'ye i obrazovaniye v XXI veke*. 2011; 13(1): 21–2. (in Russian)
  16. Prisyazhnyuk O.V., Iordanishvili A.K., Muzykin M.I. Stomatologicheskaya reabilitatsiya pri zabollevaniyakh parodonta i slizistoy obolochki polosti rta na fone sakharnogo diabeta 2 tipa. [Dental rehabilitation for periodontal and oral mucosa diseases on the background of type 2 diabetes mellitus]. *Parodontologiya*. 2020; 25(1): 27–31. DOI: 10.33925/1683-3759-2020-25-1-27-31. (in Russian)
  17. Riggz B., Melton L. Osteoporoz: etiologiya, diagnostika, lecheniye. [Osteoporosis: etiology, diagnosis, treatment]. *Sankt-Peterburg: Nevskiy dialekt*; 2000. (in Russian)
  18. Rozhinskaya L.Ya. Sistemnyy osteoporoz (patogenez, diagnostika, lecheniye). [Systemic osteoporosis (pathogenesis, diagnosis, treatment)]. *Mokeyev: Kron-press Publ.*; 2000. (in Russian)
  19. Solov'yeva-Savoyarova G.Ye., Drozhzhina V.A. Estrogeny i nekarioznye porazheniya zubov. [Estrogens and non-carious dental lesions]. *Izdatel'stvo SZGMU im. I.I. Mechnikova*. 2012. (in Russian)
  20. Timofeyev Ye.V., Belousova T.I., Vyutrikh Ye.V. i dr. Mineral'naya plotnost' kostnoy tkani i laboratornyye markery kostnogo metabolizma u molodykh muzhchin s marfanoidnoy vneshnost'yu. [Bone mineral density and laboratory markers of bone metabolism in young men with a Marfanoid appearance]. *Pediatr*. 2017; 8(6): 42–9. DOI: 10.17816/PED8642-49 (in Russian)
  21. Trashkov A.P., Brus T.V., Vasil'yev A.G. i dr. Dinamika pokazateley krasnoy krovi u krysa s nealkogol'noy zhirovoy boleznyu pecheni i vozmozhnosti yeye korrektsii. [Dynamics of indicators of red blood in rats with non-alcoholic fatty liver disease and the possibility of its correction]. *Klinicheskaya patofiziologiya*. 2017; 23(3): 66–72. (in Russian)
  22. Trashkov A.P., Vasil'yev A.G., Tsygan N.V. i dr. Antitromboticheskaya terapiya v onkologii: sovremennoye sostoyaniye problemy i nereshennyye voprosy. [Antithrombotic therapy in oncology: current state of the problem and unresolved issues]. *Pediatr*. 2012; 3(2): 3–19. (in Russian)
  23. Tsygan Ye.N., Deyev R.V. Morfofunktsional'nyye osnovy osteoporoza. [Morphofunctional bases of osteoporosis]. *Sankt-Peterburg: VMedA*; 2007. (in Russian)
  24. Yarmolinskaya M.I. Postmenopauzal'nyy osteoporoz. [Postmenopausal osteoporosis]. *Klinika, diagnostika, profilaktika, lecheniye. Uchebnoye posobiye*. Moskva: Serebryanyye niti Publ.; 2014. (in Russian)
  25. Anbinder A.L., Moraes R.M., Lima G.M. et al. Periodontal disease exacerbates systemic ovariectomy-induced bone loss in mice. *Bone*. 2016; 83: 241–7.
  26. Aljehani Y.A. Risk Factors of Periodontal Disease: Review of the Literature. *International Journal of Dentistry*. 2014; 9. DOI: 10.1155/2014/182513.
  27. Basha N. Osteoporosis and periodontitis. *OA Dentistry*. 2014; 2(1): 2.
  28. Brennan R.M., Genco R.J., Hovey K.M. et al. Clinical attachment loss, systemic bone density and subgingival calculus in postmenopausal women. *J. Periodontol*. 2007; 78: 2104–11.
  29. Dvorak G., Reich K. et al. Periodontal histomorphometry and status of aged sheep subjected to ovariectomy, malnutrition and glucocorticoid applications. *Arch Oral Biol*. 2009; 54: 857–63.
  30. Erdogan O. et al. Dental and radiographic findings as predictors of osteoporosis in postmenopausal women. *Geriatr Gerontol Int*. 2009; 9: 155–64.
  31. Goyal L., Goyal T., Gupta N.D. Osteoporosis and periodontitis in postmenopausal women. A systematic review. *J Mid-life Health*. 2017; 8: 151–8.
  32. Gur A., Nas K., Kayhan O. et al. The relation between tooth loss and bone mass in postmenopausal osteoporotic women in Turkey: a multicenter study. *J Bone Miner Metab*. 2003; 21: 43–7.
  33. Hattatoglu-Sonmez E., Gocke-Kutsal Y. et al. No alteration in bone mineral density in patients with periodontitis. *J DentRes*. 2008; 87: 79–83.
  34. Hildebolt C.F. et al. The pattern of alveolar crest height change in healthy postmenopausal women after 3 years of hormone/estrogen replacement therapy. *J Periodontol*. 2002; 73: 1279–84.
  35. Hofbauer L.C., Khosla S., Dunston C.R. et al. The Roles of Osteoprotegerin and Osteoprotegerin Ligand in Paracrine Regulation of Bone Resorption. *J Bone Miner Res*. 2000; 15: 2–12.
  36. Inagaki K., Kurosu Y., Yoshinari et al. Efficacy of periodontal disease and tooth loss to screen for low bone mineral density in Japanese women. *Calcif Tissue Int*. 2005; 77: 9–14.
  37. Inagaki K., Kurosu Y., Kamiya T. et al. Low metacarpal bone density, tooth loss and periodontal disease in Japanese women. *J Dent Res*. 2001; 80: 1818–22.

38. Issack P.S., Helfet D.L., Lane J.M. Role of Wnt Signaling in Bone Remodeling and Repair. *HSS J.* 2008; 4(1): 66–70.
39. Jeffcoat M.K., Cizz G., Shih W.J. et al. Efficacy of bisphosphonates for the control of alveolar bone loss in periodontitis. *J Int Acad Periodontol.* 2007; 9: 70–6.
40. Jonasson G., Bankvall G., Kiliardis S. Estimation of skeletal bone mineral density by means of the trabecular pattern of the alveolar bone, its interdental thickness, and the bone mass of the mandible. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001; 92: 346–52.
41. Kawai T., Matsuyama T., Hasokawa Y. et al. B and T lymphocytes are the primary sources of RANKL in the bone resorptive lesion of periodontal disease. *Am J Pathol.* 2006; 169: 987–98.
42. Klemetti E., Kolmakov S., Kroger H. Pantomography in assessment of the osteoporosis risk group. *Eur J Oral Sci.* 1994; 102: 68–72.
43. Krall E.A., Wehler C., Garcia R.I., Harris S.S., Dawson-Hughes B. Calcium and vitamin D supplements reduce tooth loss in the elderly. *Am J Med* 2001; 111; 452–6.
44. Lesnyak O., Ershova O., Belova K. et al. Epidemiology of fracture on the Russian Federation and the development of a FRAX model. *Arch Osteoporos.* 2012, 7(1–2): 67–73.
45. Megson E. et al. Relationship between periodontal disease and osteoporosis. *Int J Evid Healthc.* 2010; 8: 129–39.
46. Panchenko A.V., Popovich I.G., Egormin P.A. et al. Biomarkers of aging, life span and spontaneous carcinogenesis in the wild type and HER-2 transgenic FVB/N female mice. *Biogerontology.* 2016; 17(2): 317–24.
47. Payne J.B., Reinhardt R.A., Nummikoski P.V., Patil K.D. Longitudinal alveolar bone loss in postmenopausal osteoporotic/osteopenic women. *Osteoporos Int.* 1999;10: 34–40.
48. Persson R.E., Hollender L.G., Powell L.V. et al. Assessment of periodontal conditions and systemic disease in older subjects: I. Focus on osteoporosis. *J Clin Periodontol.* 2002; 29: 796–802.
49. Rachner T.D., Khosla S., Hofbauer L.C. Osteoporosis: now and the future. *Lancet.* 2011; 377(9773): 1276–87.
50. Ronderos M., Jacobs D.R., Himes J.H., Pihlstrom B.L. Associations of periodontal disease with femoral bone mineral density and estrogen replacement therapy: cross-sectional evaluation of US adults from NHANES III. *J Clin Periodontol.* 2000; 27: 778–86.
51. Taguchi A., Tanaka R., Kakimoto N. et al. Clinical guidelines for the application of panoramic radiographs in screening for osteoporosis. *Oral Radiol.* 2021; 3(2): 189–208.
52. Taguchi A., Tanimoto K., Sueti Y., Otani K., Wada T. Oral signs as indicators of possible osteoporosis in elderly women. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1995; 80: 612–16.
53. Taguchi A., Fujiwara S., Masunari N., Suzuki G. Self-reported number of remaining teeth is associated with bone mineral density of the femoral neck, but not of the spine, in Japanese men and women. *Osteoporosis Int.* 2004; 15: 842–6.
54. Tayeb Y., Goulttschin J., Fogel M., Schwartz Z. The relationship between osteoporosis, osteopenia and periodontitis. *Refuat Hapeh Vehashinayim.* 2003; 20(1): 8–22.
55. Teitelbaum S.L. Bone resorption by osteoclasts. *Science.* 2000, 289: 1504–8.
56. Tezal M., Wactawski-Wende J., Grossi S.G. et al. The relationship between bone mineral density and periodontitis in postmenopausal women. *J Periodontol.* 2000; 71: 1492–8.
57. Tsolaki I.N., Madianos P.N., Vrotsos J.A. Outcomes of dental implants in osteoporotic patients. A literature review. *J Prosthodont.* 2009; 18: 309–23.
58. Turner A.S. Animal models of osteoporosis — necessity and limitations. *Eur Cell Mater.* 2001; 1: 66–81.
59. Turner A.S. The sheep as a model for osteoporosis in humans. *Vet J.* 2002; 163: 232–9.
60. Vlasiadis K.Z., Skouteris C.A., Velegarakis G.A. et al. Mandibular radiomorphometric measurements as indicators of possible osteoporosis in postmenopausal women. *Maturitas.* 2007; 58: 226–35.
61. Wactawski-Wende J., Hausmann E., Hovey K. et al. The association between osteoporosis and alveolar crestal height in postmenopausal women. *J Periodontol.* 2005; 76: 2116–24.
62. Xu X.C., Chen H., Zhang X. et al. Effects of oestrogen deficiency on the alveolar bone of rats with experimental periodontitis. *Mol Med Rep.* 2015; 12(3): 3494–502.
63. Xu S., Zhang G., Guo J., Tan Y. Associations between osteoporosis and risk of periodontitis: A pooled analysis of observational studies. *Oral Diseases.* 2021; 27: 357–69.

## ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ В МИКРОБИОЛОГИИ (ЛЕКЦИЯ)

© Дмитрий Павлович Гладин<sup>1</sup>, Александр Михайлович Королук<sup>1</sup>, Ирина Владимировна Дробот<sup>1</sup>, Надежда Сергеевна Козлова<sup>2</sup>, Ирина Даниловна Анненкова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет. 194100, Санкт-Петербург, Литовская ул., д. 2

<sup>2</sup> Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова. 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41. 195067, Санкт-Петербург, Пискаревский пр., д. 47

**Контактная информация:** Дмитрий Павлович Гладин — доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии. E-mail: gladin1975@mail.ru

**Поступила:** 02.06.2021

**Одобрена:** 12.08.2021

**Принята к печати:** 17.09.2021

---

**Резюме:** Молекулярные методы исследования, в частности полимеразная цепная реакция (ПЦР), первоначально предназначались исключительно для научных целей. Однако уже тогда предполагали большую перспективу их прикладного применения в будущем. К настоящему времени молекулярно-биологические методы анализа широко используются в медицинской практике, а также во многих других сферах. ПЦР фактически произвела революцию в диагностике инфекционных заболеваний, резко повысив эффективность расшифровки природы различных процессов, обусловленных бактериями, вирусами и микроскопическими грибами. Полимеразная цепная реакция (polymerase chain reaction, PCR) позволяет существенно увеличить число копий (амплифицировать) специфического фрагмента ДНК (РНК) в исследуемой биологической пробе *in vitro* от ничтожно малых количеств до обнаруживаемых величин. В результате этого происходит усиление сигнала в реакционной смеси, что позволяет обнаружить и идентифицировать специфический участок генома возбудителя. Решающее значение этот метод имеет в случае индикации медленно растущих, трудно культивируемых или некультивируемых микроорганизмов, а также при низкой информативности серологического и других методов диагностики. Простота исполнения, высочайшие чувствительность и специфичность принесли этому методу популярность во всем мире. Благодаря ПЦР появилась возможность прямого обнаружения сверхмалых количеств нуклеиновых кислот инфекционных агентов в самых различных биосубстратах.

**Ключевые слова:** Кэри Мюллис; полимеразная цепная реакция; Tag-полимераза; амплификация.

---

## POLYMERASE CHAIN REACTION IN MICROBIOLOGY (LECTURE)

© Dmitry P. Gladin<sup>1</sup>, Alexander M. Korolyuk<sup>1</sup>, Irina V. Drobot<sup>1</sup>, Nadezhda S. Kozlova<sup>2</sup>, Irina D. Annenkova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Saint-Petersburg State Pediatric Medical University. 194100, Saint-Petersburg, Litovskaya str., 2

<sup>2</sup> North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov. 191015, Saint-Petersburg, ul. Kirochnaya, d. 41. 195067, Saint-Petersburg, Piskarevsky pr., 47

**Contact information:** Dmitry P. Gladin — Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology. E-mail: gladin1975@mail.ru

**Received:** 02.06.2021

**Revised:** 12.08.2021

**Accepted:** 17.09.2021

---

**Abstract:** Molecular biology techniques, the polymerase chain reaction (PCR) in particular, were originally developed for scientific purposes exclusively. However a great prospective of its practical application in future was obvious. Nowadays the molecular biological techniques of analysis are widely used not only in medical practice but also in many other fields. The PCR has revolutionized the diagnosis of infectious diseases, highly increasing efficiency of detecting nature of the different processes caused by bacteria, viruses and microscopic fungi. The polymerase chain reaction (PCR) significantly amplifies a specific region of DNA (RNA) in the biological material *in vitro* revealing from the smallest traces to a detectable one. As a result the signal is amplified in the reaction mix, allowing detecting and identifying the specific region of the pathogen genome. This technique is crucially important in indicating slow growing, hard-to-culture or unculturable microorganisms moreover when serological and other diagnostic methods show poor sensitivity or specificity. Due to uncomplicated approach and its high sensitivity, specificity the technique has become highly popular around the world. The PCR technique has allowed direct detection of minute amounts of nucleic acid infectious agents in different biological substrates.

**Key words:** Kary Mullis; polymerase chain reaction; Tag polymerase; amplification.

---

## ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ ПЦР

Полимеразная цепная реакция является гениальным изобретением молодого американского биохимика-исследователя Кэри Мюллиса (Kary Banks Mullis) (рис. 1). По его рассказу, это произошло, когда он мчался на север вдоль Тихоокеанского побережья в автомобиле со спящей подругой, не переставая напряженно думать о своей работе [10, 11]. Выдающиеся перспективы открытого им в 1983 году метода стали очевидны достаточно быстро, поэтому мировое научное признание пришло к его автору сравнительно скоро. Мюллис получил за свое открытие Нобелевскую премию по химии в 1993 году, в возрасте 39 лет, через несколько лет после того, как он и его коллеги по фирме Cetus впервые применили ПЦР на практике. Открытие фактически разделило биологию на две эпохи: до ПЦР и после ПЦР.

Однако споры и пересуды относительно правомочности единоличного приоритета К. Мюллиса в разработке методики ПЦР не утихают до сих пор. В истории науки такие ситуации нередки, потому что почва для эпохальных научных открытий, как правило, подготавливается другими исследователями, обойденными научной славой.

Кроме того, надо заметить, аргументы для критиков щедро предоставлял сам К. Мюллис — личность достаточно неоднозначная. В нем причудливо уживались серьезный, вдумчивый ученый с авантюрным, даже бесшабашным хулиганом, любителем ненормативной лексики. Создается впечатление, что ему нравилось периодически эпатировать почтенных ученых и широкую общественность. Например, рассуждениями о положительном влиянии галлюциногенов на творческие способности — «это опыт, открывающий сознание». Он любил высказаться, что «наукой занимаются люди, которые зависят от того, что им платят за то, что они собираются узнать», а не за то, что они на самом деле производят. Мюллис упорно утверждал, что изменение климата и связь СПИДа с вирусом иммунодефицита человека связаны не с научными данными, а с заговором экологов, правительств и ученых, оберегающих свою карьеру и деньги. Нобелевский лауреат К. Мюллис написал похвальное предисловие к книге «Что, если все, что вы думали о СПИДе, было неверным?» скандальной Кристины Маджоре, шумно не признающей инфекционную природу СПИДа. (Она и ее дочь, будучи ВИЧ-позитивными, потом умерли от СПИДа.) Мюллис рассказывал о встрече со «стандартным инопланетным флуоресцирующим енотом» в своем домике в лесах северной Калифорнии около полуночи в ночь на 1985 год, отрицая, что был на психоделике. Короче говоря, это был неординарный, яркий человек из числа тех ученых, которые, реально добившись большого успеха в своей конкретной области, потом сочли возможным делать необоснованные, даже странные заявления в тех науках, где не проводили никаких исследований. Однако Мюллис всегда признавал важную роль предшественников, чьи работы позволили ему однажды совершить свое открытие.

В 1955 году А. Корнбергом и его коллегами был открыт фермент ДНК-полимераза из *Escherichia coli*. Он позволял

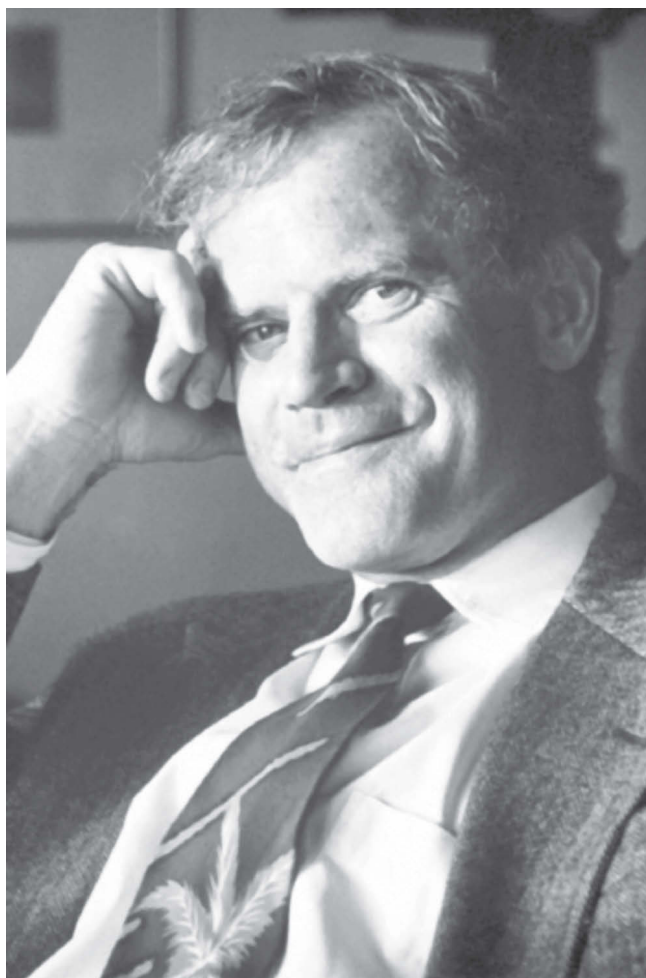


Рис. 1. Кэри Б. Мюллис (1944–2019)

удлинять короткие олигонуклеотидные праймеры (одноцепочечные искусственно синтезированные молекулы ДНК) присоединением к 3'-концу цепи ДНК дополнительных нуклеотидов при условии, что праймер комплементарен ДНК-матрице. В начале 1970-х годов норвежский ученый Х. Клеппе из лаборатории нобелевского лауреата Х. Кораны предложил способ удвоения новообразованных отрезков ДНК, разделяя обе цепи нагреванием до 80–90 °С.

В первой публикации в 1971 году с описанием этой техники Клеппе и соавторы писали: «ДНК-дуплекс (двойная цепь ДНК) должен быть денатурирован для образования одиночных нитей. Эта стадия проводится в присутствии достаточно большого избытка двух подходящих праймеров. После охлаждения можно надеяться получить две структуры, каждая из которых содержит всю длину цепи шаблона, соответствующим образом образованной в комплексе с праймером. Добавление ДНК-полимеразы завершит процесс восстановления репликации, и в результате должны быть получены две молекулы исходного дуплекса. Весь цикл можно повторить, добавляя каждый раз свежую дозу фермента».

Однако это предложение в те годы осталось нереализованным из-за трудоемкого ручного синтеза праймеров и необхо-

димости очистки большого количества ДНК-полимеразы из *E. coli*. К тому же этот фермент быстро инактивировался при высокой температуре в процессе разделения цепей ДНК.

Проницательный и креативный 29-летний биохимик Кэри Мюллис первым предложил наиболее пригодную технологию амплификации ДНК путем многократных последовательных удвоений исходной молекулы ДНК с помощью ДНК-полимеразы. В это время он работал в Эмеривилле, штат Калифорния, в биотехнологической компании Cetus Corporation, где занимался синтезом коротких цепей ДНК.

Пионерская публикация о ПЦР появилась в 1985 году в журнале «Science» (статья «Ферментативная амплификация геномных последовательностей β-глобина и анализ сайтов рестрикции для диагностики серповидно-клеточной анемии» написана в соавторстве с Р. Сайки и др.). Изложенная в ней процедура была все-таки довольно длительной и трудоемкой, т.к. после каждого цикла нагревание–охлаждение приходилось добавлять в реакционную смесь новую порцию ДНК-полимеразы вместо инактивированной. Требовалось очень много дорогого фермента, поэтому предложение применить для ПЦР уже известную к тому времени термостабильную ДНК-полимеразу (Taq-полимеразу) стало существенным рывком в развитии метода и ускорило его широкое использование. Вторая статья практически той же группы исследователей была опубликована в «Science» через год (1986) с названием «Направленная праймером ферментативная амплификация ДНК с помощью термостабильной ДНК-полимеразы».

Taq-полимераза была впервые выделена из экстремально термофильной бактерии *Thermus aquaticus* и охарактеризована американским биохимиком А. Чьен с коллегами в 1976 году. (Этот фермент также был независимо описан советскими биохимиками А. Калединым, А. Слюсаренко и С. Городецким в 1980 году. В СССР подобные штаммы выделяли из горячих источников вулканического происхождения на Камчатке.)

*T. aquaticus* — грамотрицательная палочковидная экстремально термофильная бактерия, живущая в гейзерах и других горячих источниках с температурой выше 55 °С. Она синтезирует устойчивые к высоким температурам ферменты, в частности Taq-полимеразу (термостабильную ДНК-зависимую-ДНК-полимеразу), которая служит незаменимым реактивом в молекулярно-генетических исследованиях. Температурный оптимум Taq-полимеразы составляет 70–80 °С. Этот фермент обладает ДНК-полимеразной и 5',3'-экзонуклеазной активностями, что обеспечивает реализацию ПЦР. Впервые этот термофильный микроорганизм был выделен в 1975 году Томасом Броксом и Хадсоном Фризом в районе Больших Фонтанов Йеллоустонского национального парка.

Метод ПЦР был запатентован К. Мюллисом и передан работодателю, т.е. корпорации Cetus Corporation, в которой он работал химиком-синтетиком в то время. За эту работу он получил от Cetus бонус (премию) в размере 10 тысяч долларов США. В 1992 году Cetus продала уже за 300 миллионов долларов права на метод и патент на использование Taq-полимеразы швейцарской фармацевтической компании Roche Molecular

Systems (ныне Hoffmann-La Roche) — одной из ведущих компаний мира в области фармацевтики и диагностики. Опираясь на сообщение в 1976 году А. Чьен и соавторов о первом выделении и описании термостабильной Taq-полимеразы, компания Promega пыталась в судебном порядке заставить Roche отказаться от исключительных прав на этот фермент.

Патентное сражение за Taq-полимеразу все еще продолжается в нескольких юрисдикциях по всему миру между Roche и Promega несмотря на то, что юридические аргументы вышли за пределы срока действия первоначальных патентов на ПЦР и Taq-полимеразу, срок действия которых истек 28 марта 2005 г. Оспаривали единоличное авторство Мюллиса в открытии ПЦР и коллеги по работе, разгневанные его внезапным уходом из Cetus. Между тем сам Мюллис в своей нобелевской речи рассказывал, как он донимал коллег рассказом о своем внезапном озарении, однако они только отмахивались, не видя ценности в его идее. Возможно, как самокритично признавал сам Мюллис, потому что все привыкли к «дикости» его многочисленных идей.

Таким образом, разработка принципа ПЦР и последующее широкое внедрение метода в различные практические сферы деятельности является продуктом как коллективной, так и индивидуальной работы [12]. Кэри Мюллис был более креативен, более внимателен и подготовлен для того, чтобы правильно оценить и суммировать разрозненные факты, которые были у всех на виду, но значение которых обычно упускалось. Способность внимательно наблюдать и не пропускать — это то, что отличает гениального ученого от многих просто умных исследователей. К сожалению, сравнительно недавно — 7 августа 2019 года — выдающийся изобретатель и неординарный человек Кэри Мюллис умер, не дожив несколько месяцев до своего 75-летия.

## ПРИНЦИП И МЕХАНИЗМЫ ПЦР

В основе ПЦР лежит уникальная способность ДНК удваиваться. ДНК представляет собой двойную нить, каждая из которой состоит из нуклеотидов [3, 5].

ДНК реплицируется во всех живых клетках (рис. 2). Главная задача ПЦР — заставить специфический для данного инфекционного агента фрагмент ДНК (РНК) удваиваться *in vitro* в том случае, если он присутствует в пробе. При этом число образовавшихся дочерних фрагментов ДНК также будет возрастать в геометрической прогрессии, то есть возникнет цепная реакция, которую обеспечивает фермент — термостабильная Taq-полимераза.

В конечном итоге образуется огромное число копий искомого фрагмента ДНК (**амплификация**), которые выявляются разными способами. Важно понимать, что происходит копирование только того участка, который удовлетворяет заданным условиям. Естественно, это невозможно, если его нет в исследуемом образце. На первом этапе амплификации происходит «расплавление» нити ДНК при действии высокой температуры (95 °С) с образованием двух нитей, на втором

### СТРОЕНИЕ И РЕПЛИКАЦИЯ ДНК

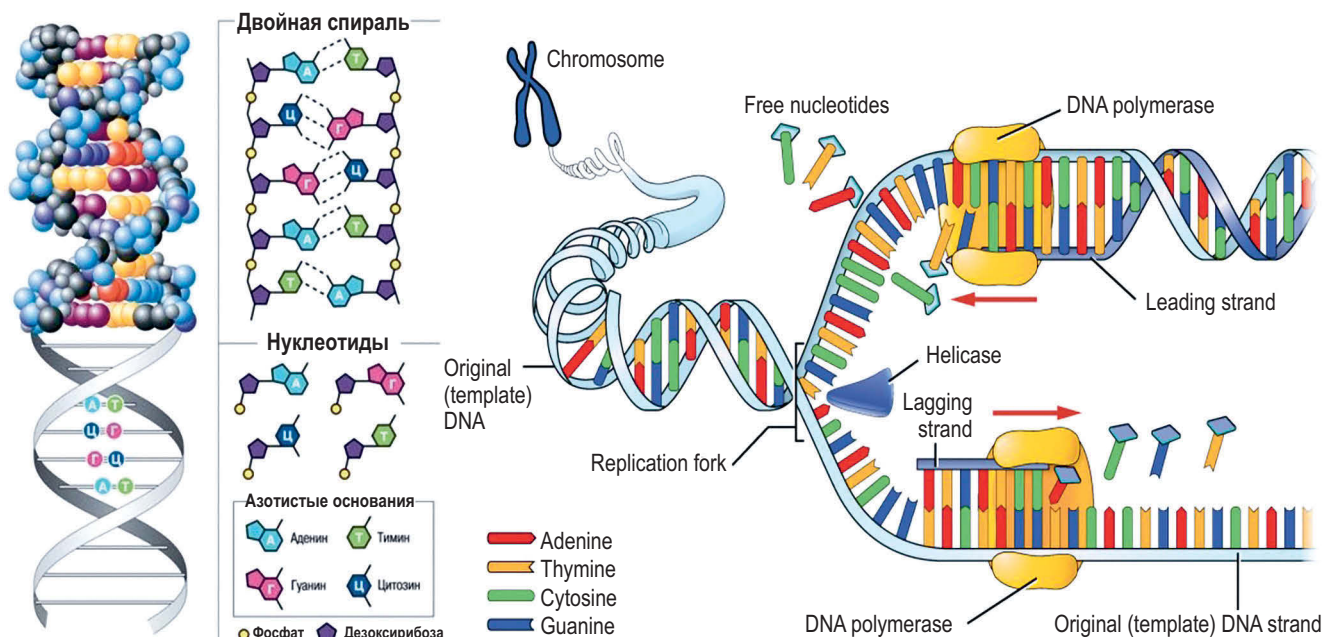


Рис. 2. Схема полуконсервативной репликации ДНК

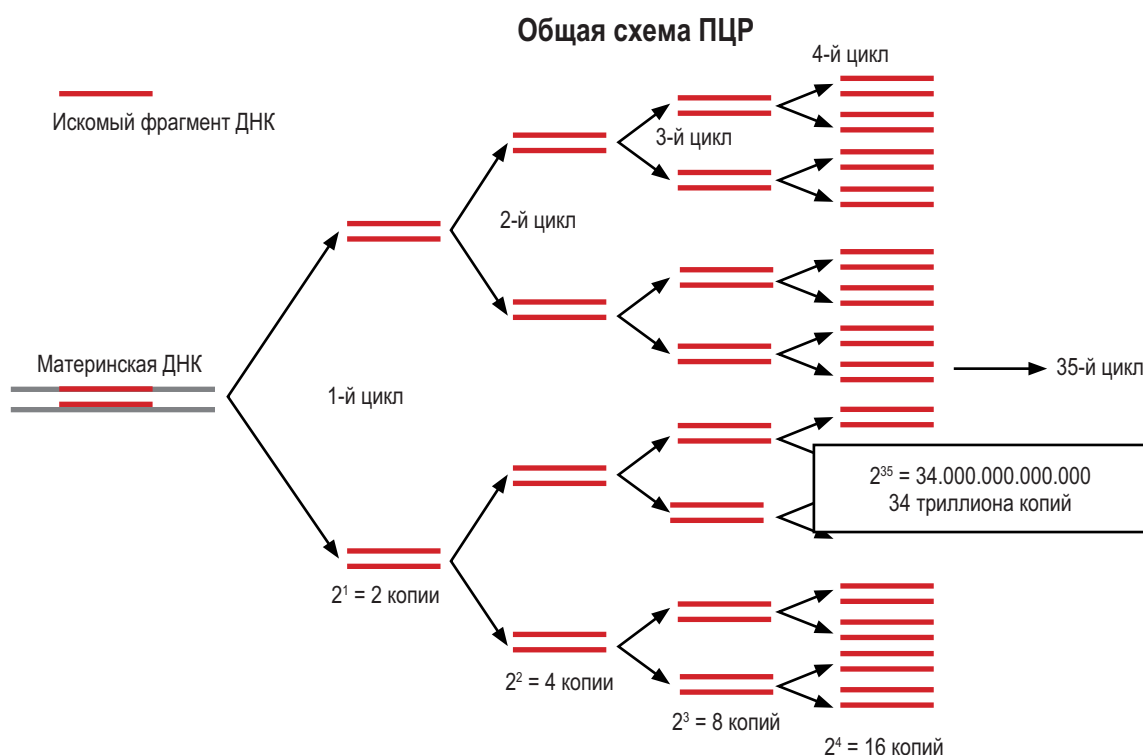


Рис. 3. Схема полимеразной цепной реакции

этапе к каждой нити присоединяются праймеры (50–65 °С) и на третьем этапе происходит достраивание нитей при помощи Taq-полимеразы (72 °С).

Таким образом, ПЦР — это трехэтапный циклический процесс, воспроизводимый в приборах-амплификаторах и

повторяющийся 30–40 раз. Образовавшиеся в первом цикле амплификации новые цепи ДНК служат матрицами для второго цикла, в котором происходит образование специфического продукта ДНК-ампликона. В последующих циклах ампликоны служат матрицей для синтеза новых цепей. Таким образом,

происходит накопление ампликонов в реакционной смеси по формуле  $2^n$ , где  $n$  — число циклов амплификации (рис. 3). Если даже изначально в материале находилась только одна двухцепочечная молекула ДНК, то за 30–40 циклов в растворе накапливается  $10^8$  молекул ампликонов, которые выявляются при помощи различных методов детекции.

## КОМПОНЕНТЫ ПЦР

Проведение полимеразной цепной реакции обеспечивается наличием в реакционной смеси ряда обязательных ингредиентов (рис. 4).

Для классического варианта ПЦР требуются следующие компоненты.

1. **ДНК-матрица**, содержащая специфический фрагмент ДНК, который требуется размножить (амплифицировать). При отсутствии ДНК-мишени специфические продукты амплификации (ампликоны) не образуются.

2. **Праймеры** — синтетические олигонуклеотиды, имеющие, как правило, размер от 15 до 30 нуклеотидов, комплементарные искомому специфическому фрагменту ДНК. Для проведения ПЦР используются два праймера, комплементарные противоположным концам разных цепей специфического фрагмента ДНК (один праймер для «плюс» цепи, второй — для «минус» цепи). Присоединившись к противоположным цепям молекулы ДНК, праймеры ограничивают тот участок, который будет амплифицироваться. Именно на образовании комплементарных комплексов между матрицей и праймерами основана специфичность ПЦР. Определение структуры и конструирование праймеров является самым ответственным моментом работы. Требуется подобрать такой фрагмент молекулы ДНК, который бы отличался генетической консервативностью и присутствовал только у интересующего вида микроорганизма или исследуемого гена. Это выполняется при помощи специальных компьютерных программ, содержащих информацию о нуклеотидной последовательности генов. Информацию о последовательностях генов получают на сайтах международных компьютерных банков (Gen bank, EMBL). Прежде всего, праймеры должны быть специфичными. Особое внимание уделяют 3'-концам праймеров, так как именно с них Таq-полимераза начинает достраивать комплементарную цепь ДНК. Область связывания (отжига) праймеров с цепью

ДНК не должна находиться в зоне мутаций в пределах видовой специфичности микроорганизмов, взятой в качестве критерия выбора праймера. При попадании в такую область отжиг праймеров не происходит и возрастает вероятность ложноотрицательного результата.

3. **Таq-полимераза (термостабильная ДНК-полимераза)**. Как было отмечено выше, этот фермент был выделен из термофильной бактерии *T. aquaticus*. Таq-полимераза является гомологом ДНК-полимеразы I *Escherichia coli*, однако отличается термостабильностью (температурный оптимум составляет 79–80 °С). Этот фермент обладает ДНК-полимеразной и 5',3'-экзонуклеазной активностями, что делает его незаменимым для проведения ПЦР. Он состоит из 832 аминокислотных остатков и имеет молекулярную массу около 94 кДа. Это ключевое свойство данной ДНК-полимеразы делает ее пригодной для ПЦР. Период полужизни фермента при температуре 92,5 °С составляет 130 минут, что позволяет проводить многочисленные циклы амплификации. Скорость работы Таq-полимеразы составляет примерно 60 нуклеотидов в секунду при 72 °С. В настоящее время кроме первоначального варианта Таq-полимеразы используют термостабильные ДНК-полимеразы, выделенные из других термофилов — *Pyrococcus furiosus* (Pfu-полимераза), *Pyrococcus woesei* (Pwo-полимераза), *Thermus thermophilus* (Tth-полимераза) и другие.

4. **Смесь дезоксинуклеотидтрифосфатов (дНТФ)**. Они представляют собой строительный материал, так называемые «кирпичики» ПЦР, из которых Таq-полимераза строит вторую цепь ДНК. Дезоксинуклеотидтрифосфаты представляют собой смесь дезоксиаденозинтрифосфата (дАТФ), дезоксигуанозинтрифосфата (дГТФ), дезоксицитозинтрифосфата (дЦТФ) и дезокситимидинтрифосфата (дТТФ).

5. **Ионы магния** необходимы для работы Таq-полимеразы.

6. **Буферный раствор**, обеспечивающий необходимые условия — pH, ионную силу раствора. Содержит соли, бычий сывороточный альбумин.

7. **Дополнительные компоненты**. Для удобства детекции и контроля амплификации в состав реакционной смеси могут быть включены **внутренние контроли и ДНК-зонды**. Внутренние контроли — гетерологичный специфическому фрагменту ДНК, ограниченный праймерами. Представляет собой альтернативную матрицу для ПЦР и позволяет контролировать процесс

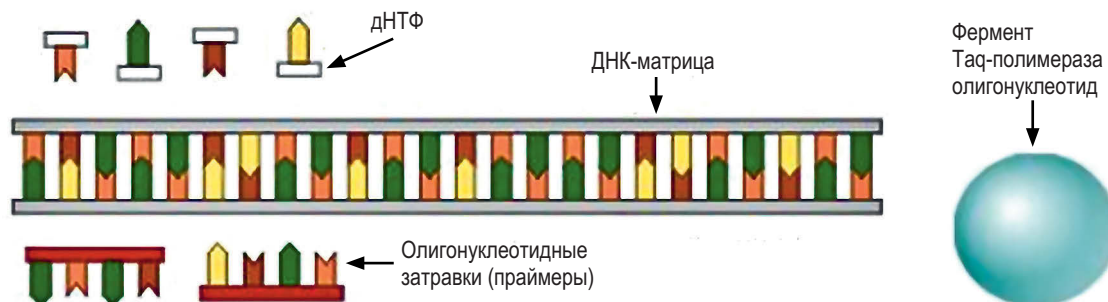


Рис. 4. Основные ингредиенты для постановки ПЦР

амплификации в каждой конкретной пробирке. ДНК-зонды — искусственно синтезированные олигонуклеотиды, комплементарные ампликонам (продуктам реакции) и меченные флуоресцентными или изотопными метками [9].

### СТАДИИ ПЦР

Полимеразную цепную реакцию проводят в амплификаторе — приборе, обеспечивающем периодическое нагревание и охлаждение пробирок. Современные амплификаторы позволяют задавать сложные программы, с точностью температуры не менее 0,1 °С. ПЦР представляет собой трехэтапный циклический процесс (рис. 5). Обычно при проведении ПЦР выполняется 20–40 циклов, каждый из которых состоит из трех стадий. Каждая стадия протекает при определенной

температуре, создаваемой в амплификаторе: денатурация (94–95 °С), отжиг праймеров (50–60 °С) и элонгация (удлинение) цепи ДНК (72 °С).

**Денатурация.** Во время денатурации происходит «расплавление» двуцепочечной ДНК, то есть расплетение ее нитей. ДНК переходит в однонитевую форму, ее нити расходятся, так как разрушаются водородные связи между двумя цепями ДНК. Обычно перед первым циклом проводят длительный прогрев реакционной смеси в течение 2–5 минут для полной денатурации матрицы ДНК. Время денатурации ДНК в последующих циклах составляет 30–40 секунд.

**Отжиг.** Когда цепи ДНК разошлись, температуру понижают, чтобы праймеры могли связаться с одноцепочечной матрицей. Присоединение праймеров происходит комплементарно соответствующим последовательностям на противоположных

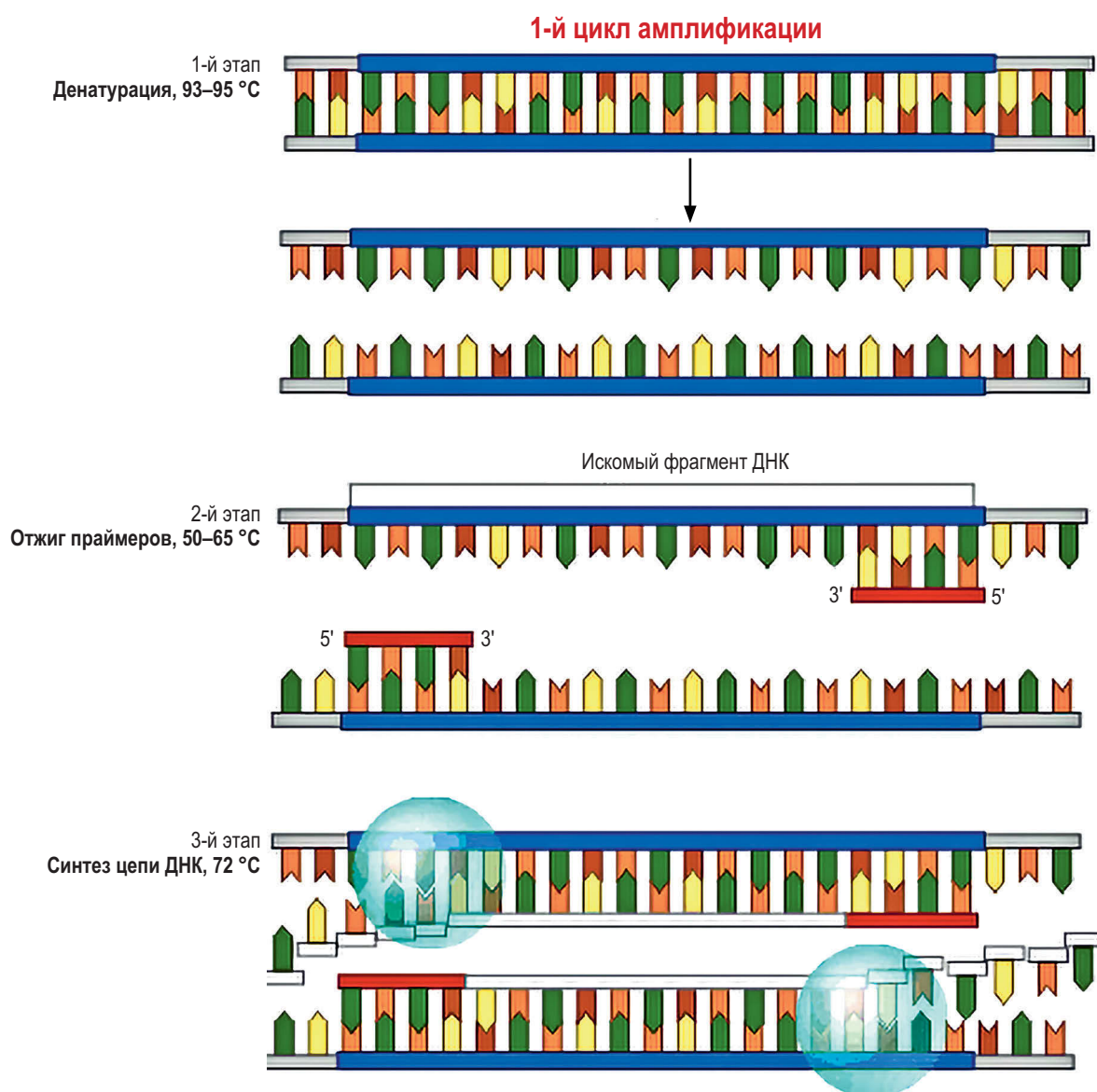


Рис. 5. Основные этапы ПЦР

цепях ДНК на границах специфического участка. После отжига праймеры строго ограничивают специфический фрагмент ДНК, и именно он будет в последующем амплифицироваться. Время отжига праймеров — 20–60 секунд.

**Элонгация.** Представляет собой процесс достраивания цепей ДНК специфического участка. При образовании комплекса праймер–матрица появляются условия для связывания с ним Taq-полимеразы. Достраивание цепей ДНК происходит от 5-конца к 3-концу цепи в противоположных направлениях, начиная с участков присоединения праймеров. Эта стадия длится 20–40 секунд. После прохождения трех этапов цикл повторяется вновь, а количество копий искомого фрагмента ДНК увеличивается в геометрической прогрессии.

## ПОСТАНОВКА ПЦР

**Выделение нуклеиновых кислот.** Экстракция нуклеиновых кислот (ДНК или РНК) является важнейшим этапом ПЦР. Взятые образцы клинического или иного материала помещают в пробирки типа Эппендорф объемом 1,5 мл. Следует пользоваться пробирками, стенки которых лишены ДНК-аз и РНК-аз, так как это препятствует разрушению искомым нуклеиновых кислот указанными ферментами. Методики выделения нуклеиновых кислот из образцов зависят от вида исследуемого материала и типа

выделяемой нуклеиновой кислоты. В настоящее время фирмы-производители реагентов для ПЦР в инструкциях детально описывают этапы выделения, а сам процесс экстракции нуклеиновых кислот для врача клинико-диагностической лаборатории представляет чисто механическую работу.

**Амплификация.** Этап амплификации искомого фрагмента ДНК происходит в амплификаторе (рис. 6). Этот прибор позволяет создавать заданную температуру и многократно повторять циклы амплификации, что ведет к накоплению ампликонов в реакционной смеси.

Перед проведением амплификации необходимо приготовить реакционную смесь. Для этого необходимы пробирки объемом 0,2 или 0,5 мл (в зависимости от размера лунок в амплификаторе). В эти пробирки вносится амплификационная смесь, состоящая из выделенных нуклеиновых кислот, праймеров, раствора дНТФ, ПЦР-буфера и Taq-полимеразы. Все ингредиенты реакции добавляются строго в определенных количествах. Конечный объем смеси составляет обычно 25 мкл.

В каждую пробирку добавляют каплю минерального масла для предотвращения испарения реакционной смеси. Затем пробирки помещают в амплификатор и запускают соответствующую программу. Время проведения амплификации в зависимости от заданной программы может составлять от 1,5 до 3 часов.



Рис. 6. Образцы амплификаторов



Рис. 7. Флуоресцентный детектор продуктов амплификации (а); оборудование для проведения ПЦР в режиме реального времени (б)

## РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ПЦР

**Электрофоретическая детекция.** Метод основан на выявлении амплифицированных фрагментов ДНК при помощи электрофореза в агарозном геле, содержащем бромистый этидий. Последний образует с фрагментами ДНК комплекс, который светится в виде полос при облучении геля УФ-лучами. В лунки геля помещают исследуемые и контрольные образцы и проводят электрофорез в течение 15–20 минут. После процедуры электрофореза гель помещают на трансиллюминатор (прибор, излучающий ультрафиолет) и выявляют фрагменты ДНК в виде светящихся полос. Гель фотографируют для документирования результатов.

Существенным недостатком электрофоретической детекции является высокий риск контаминации исследуемых образцов продуктами амплификации вследствие необходимости открытия пробирок и субъективизм учета результатов. В связи с этим для электрофореза необходимо отдельное помещение и сотрудники, не участвующие в проведении этапов выделения нуклеиновых кислот и амплификации [8].

**Гибридационно-флуоресцентная детекция.** В основе гибридационно-флуоресцентной детекции лежит принцип гибридации (связывания) флуоресцентно-меченого олигонуклеотидного зонда с комплементарным участком амплифицируемой ДНК-мишени, в результате которой происходит нарастание интенсивности флуоресценции. Присутствие такого зонда в реакционной смеси позволяет регистрировать накопление продуктов амплификации после окончания полимеразной цепной реакции (детекция по «конечной точке», End-point analysis) или в процессе ПЦР (детекция в режиме реального времени, Real-time PCR) путем измерения интенсивности флуоресцентного сигнала. В первом случае учет результатов осуществляется при помощи флуоресцентного детектора, в

который помещают пробирки после проведения амплификации, что позволяет оценить результаты качественно (рис. 7).

При постановке ПЦР в режиме реального времени амплификатор является одновременно и детектором. Таким образом, одновременно происходит и амплификация, и регистрация ее продуктов, что позволяет в реальном времени количественно анализировать накопление ампликонов. В настоящее время это основной и наиболее часто применяемый метод в рутинной практике клинично-диагностических лабораторий. Он позволяет количественно определить число копий ДНК/РНК, что незаменимо при диагностике вирусных инфекций (вирусные гепатиты, ВИЧ), а также для определения интенсивности инфекционного процесса и контроля проводимой терапии.

В обоих случаях детекция результатов ПЦР осуществляется без извлечения продуктов реакции из пробирок, что позволяет свести к минимуму риск контаминации продуктами ПЦР и возникновению ложноположительных результатов. ПЦР-лаборатории с детекцией по конечной точке и в режиме реального времени не требуют отдельного помещения для учета результатов, что существенно сокращает затраты. Дополнительным преимуществом гибридационно-флуоресцентной детекции является возможность автоматизировать учет результатов анализа и снизить субъективизм интерпретации результатов (рис. 7).

## ДОСТОИНСТВА И ОГРАНИЧЕНИЯ ПЦР

**Прямое обнаружение возбудителя.** Многие методы лабораторной диагностики инфекционных заболеваний, например иммуноферментный анализ (ИФА), выявляют продукты жизнедеятельности патогенных микроорганизмов, маркерные белки и антитела к ним. Это позволяет лишь косвенно судить о нали-

чии самого инфекционного агента. Выявление специфического фрагмента ДНК при помощи ПЦР уверенно свидетельствует о наличии возбудителя в исследуемом материале.

**Высокая чувствительность.** ПЦР-анализ выявляет наличие возбудителя даже в тех случаях, когда другими методами это сделать невозможно. Высокая чувствительность (10–100 микробных клеток в пробе) позволяет обнаружить ДНК/РНК возбудителя на ранних стадиях, когда другие методы неэффективны. Нередко патоген замаскирован клеточными структурами и антителами. В этих случаях ПЦР незаменима как метод прямого обнаружения патогенного микроорганизма.

**Высокая специфичность.** Специфичность метода определяется подбором специфических праймеров, способных связаться исключительно только с фрагментом ДНК искомого микроорганизма. Это свойство позволяет выявить ДНК инфекционного агента в присутствии ДНК других микроорганизмов и ДНК клеток организма хозяина.

**Универсальность постановки ПЦР.** Сходство химической структуры нуклеиновых кислот дала возможность унифицировать методику и определить в одной пробе несколько возбудителей, например возбудителей инфекций, передающихся половым путем (ИППП).

**Быстрота постановки и высокая скорость получения результата.** Очень важное преимущество ПЦР — отсутствие культуральной микробиологической работы. ПЦР-анализ максимально облегчен и во многом автоматизирован. Простота и удобство постановки ПЦР делает возможным получение результата через 2–3 часа.

**Высокая эффективность ПЦР** при индикации трудно культивируемых, некультивируемых или персистирующих форм микроорганизмов. Это крайне необходимо при диагностике латентных и хронических инфекций, а также для выявления микроорганизмов с высокой антигенной изменчивостью.

**Разнообразие исследуемого материала.** В качестве образца для ПЦР-исследования можно брать не только материал от больного, но также многие другие субстраты, в которых могут быть искомые молекулы ДНК [1, 2, 4]. К ним относятся вода, почва, продукты питания, смывы и многое другое, что позволяет широко использовать ПЦР в санитарной микробиологии.

**Основным ограничением** использования метода ПЦР является возможность ускользания от обнаружения некоторых высокоизменяемых патогенных микроорганизмов. Если мутация произошла в амплифицируемом участке генома, то он становится неуловимым для прежней тест-системы. Еще один недостаток ПЦР — невозможность дифференциации нуклеиновых кислот жизнеспособных и мертвых микроорганизмов, что снижает ценность контроля этим методом эффективности этиотропной терапии.

## ПРИМЕНЕНИЕ ПЦР В МЕДИЦИНСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

Среди множества различных направлений клинической диагностики медицинская микробиология занимает лидиру-

ющее место по количеству приложений, использующих технологию ПЦР. Внедрение ПЦР в повседневную практику клинико-диагностических лабораторий существенно расширило возможности клинической микробиологии, основу которой составляет бактериологическое исследование. Традиционные методы исследования хорошо оправдывают себя при диагностике инфекций, вызванных легко культивируемыми микроорганизмами.

Однако спектр микроорганизмов, которые могут быть чрезвычайно чувствительны к взятию, транспортировке исследуемого материала и условиям культивирования, очень широк. К таким патогенам относятся пневмококки, микоплазмы, гемофилы, нейссерии, бордетеллы, облигатные неспоровые анаэробы и многие другие. Медленный рост на питательных средах таких микроорганизмов, как микобактерии, является еще одним ограничением, связанным с использованием культуральных методов. Многие возбудители из числа облигатных внутриклеточных паразитов (риккетсии, хламидии, вирусы) не способны к росту на искусственных питательных средах. Традиционные микробиологические методы, как правило, основаны на использовании фенотипических тестов. Однако фенотипическая вариабельность многих патогенов может привести к неверной идентификации. Универсальность ПЦР, базирующаяся на сочетании высочайшей чувствительности и специфичности, позволяет выявлять практически все патогенные микроорганизмы.

В этот список можно включить:

- социально значимые инфекции — туберкулез, ИППП, гепатиты В и С, ВИЧ-инфекция;
- особо опасные инфекции, возникновение которых всегда расценивается как чрезвычайная ситуация, — чума, желтая лихорадка, геморрагические лихорадки Ласса, Эбола, Марбург и другие [8];
- эпидемические инфекции, способные нанести серьезный ущерб здоровью населения, — новая коронавирусная инфекция (COVID-19), тяжелый острый респираторный синдром (SARS), грипп, вызванный совсем новым подтипом вируса гриппа А и др.;
- TORCH-инфекции — токсоплазмоз, краснуха, цитомегаловирусная инфекция, другие герпетические инфекции; особенно актуальна своевременная диагностика этих заболеваний у беременных.

**ПЦР незаменима при контроле эффективности терапии многих инфекционных заболеваний.**

Для такой цели наиболее пригодна ПЦР в варианте **NASBA-тест** (Nucleic acid sequence based amplification). Основу метода составляет амплификация РНК возбудителей при участии обратной транскриптазы. Тест был разработан в 1991 году Дж. Комптоном и использован для диагностики ВИЧ-инфекции. Преимуществом этого метода является обнаружение только живых клеток, в которых синтезируется РНК. Дело в том, что молекула ДНК стабильна как в живых, так и в мертвых клетках. В связи с этим обнаружение ДНК не всегда говорит о присутствии в организме жизнеспособных микроор-

ганизмов. Что касается РНК, то она очень нестабильна и после гибели микроорганизма в результате проводимой терапии быстро разрушается. Это свойство теста особенно актуально после проводимого лечения. Обычную ПЦР, выявляющую ДНК, можно применять не ранее чем через 3–4 недели после окончания лечения, а NASBA уже через 5–7 дней. Кроме этого, NASBA обладает очень высокой чувствительностью, что позволяет диагностировать инфекции на ранних стадиях.

**Использование ПЦР для детекции генов резистентности к антимикробным препаратам** непосредственно в исследуемом материале от больного или в чистой культуре возбудителя позволяет сократить сроки исследования и быстро получить информацию о резистентности штамма (табл. 1). Все большую актуальность приобретает детекция генов резистентности у возбудителей госпитальных инфекций [6, 7] (MRSA-штаммы *S. aureus*, энтеробактерий, устойчивых к цефалоспорином третьего поколения и карбапенемам), *M. tuberculosis*, устойчивых к противотуберкулезным препаратам, а также некоторых вирусов, резистентных к химиопрепаратам (герпес, ВИЧ).

**Использование ПЦР для генотипирования микроорганизмов.** ПЦР широко используют для определения клонального родства штаммов микроорганизмов, что особенно ценно при эпидемиологических исследованиях. Генотипирование на основе ПЦР отличается универсальностью, более точным уровнем дифференциации, а также возможностью использования количественных методов для оценки идентичности штаммов. Различные варианты ПЦР с целью генотипирования приведены в таблице 2.

Кроме этого, полимеразная цепная реакция используется в санитарной микробиологии и генной инженерии для конструирования промышленных штаммов микроорганизмов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

За последние четыре десятилетия метод ПЦР доказал свое огромное научное и прикладное значение, с его помощью были реализованы масштабные исследования в области медицины и биологии, совершен поистине гигантский прорыв в диагностике широкого спектра инфекционных и генетических

Таблица 1

### Примеры использования ПЦР для выявления резистентности микроорганизмов к антимикробным препаратам

Микроорганизм	Антимикробные препараты	Генетические механизмы резистентности, выявляемые ПЦР
<i>S. aureus</i>	Метициллин (оксациллин) и другие бета-лактамы	Наличие гена <i>tesA</i> , кодирующего дополнительный пенициллин-связывающий белок (ПСБ-2а)
Энтеробактерии ( <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> )	Цефалоспорины 3 поколения	Гены <i>TEM</i> , <i>SHV</i> и <i>OXA</i> бета-лактамаз расширенного спектра действия
Энтеробактерии ( <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> ), <i>Acinetobacter</i> , <i>P. aeruginosa</i>	Карбапенемы	Гены, кодирующие синтез NDM, <i>VIN</i> , <i>OXA</i> , <i>KPC</i> и IMP-карбапенемаз
<i>M. tuberculosis</i>	Изониазид	Мутации в гене каталаза-пероксидазы ( <i>katG</i> )
	Рифампицин	Мутации в гене бета-субъединицы РНК-полимеразы ( <i>groB</i> )
	Этамбутол	Мутации в гене <i>embB</i> , кодирующем синтез арабиногалактана
	Стрептомицин	Мутации в генах 16S рРНК ( <i>rrs</i> ) и рибосомного белка <i>S12</i> ( <i>rpsL</i> )
	Фторхинолоны	Мутации в гене ДНК-гиразы ( <i>gyrA</i> )
Вирус простого герпеса (ВПГ)	Ацикловир	Мутации в гене тимидинкиназы ( <i>tk</i> ), реже в гене ДНК-полимеразы
Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ)	Ингибиторы обратной транскриптазы	Мутации в гене полимеразы ( <i>pol</i> )

Таблица 2

### Примеры генетического типирования микроорганизмов при использовании различных модификаций ПЦР

Метод	Основной принцип	Область применения
RAPD (AP-PCR)	Амплификация произвольных участков генома в условиях нестрогого связывания праймеров	Локальные эпидемиологические исследования любых штаммов микроорганизмов, выделяемых на питательных средах
Rep-PCR	Амплификация участков генома, ограниченных консервативными повторяющимися последовательностями ДНК	Типирование большинства грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов
ПЦР-ПДРФ (PCR-RFLP)	Амплификация специфических участков ДНК и их расщепление с помощью рестриктаз	Типирование возбудителей, находящихся непосредственно в клинических образцах или культуре клеток

заболеваний, а также в онкопатологии. Накопленная за этот период информация позволила сформировать принципиально новый, персонализированный подход к комплексному обследованию пациентов и определить альтернативные варианты терапии с учетом особенностей их генотипа и популяционной принадлежности.

ПЦР используется для точной идентификации как отдельных патогенов, так и для характеристики смешанных популяций, например микробиоты кишечника. ПЦР необходима для анализа ДНК человека на мутации и полиморфизмы, а также для типирования тканей и крови, что важно в трансплантологии. Так называемую «дактилоскопию» ДНК на основе ПЦР можно считать наиболее значимым достижением в судебной экспертизе за последние 50 лет. Использование ПЦР принесло пользу и за пределами медицины: теперь ДНК можно секвенировать из высушенных или окаменелых образцов, возраст которых составляет тысячи и даже миллионы лет. Это произвело революцию в палеонтологии.

Хотя в историческом масштабе идея метода многократного увеличения числа копий искомой молекулы ДНК возникла относительно недавно, ПЦР стала неотъемлемой частью глобальных научных исследований и лабораторной практики, продолжая при этом совершенствоваться и развиваться.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев В.В., Алипов А.Н., Андреев В.А. и др. Медицинские лабораторные технологии. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013.
2. Взятие, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР-диагностики. Справочно-информационное издание для ПЦР-лабораторий. М.: ИнтерЛабСервис; 2012.
3. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. Пер. с англ. М.: Мир; 2002.
4. Горбунова В.Н. Введение в молекулярную диагностику и генотерапию наследственных заболеваний. СПб.: Специальная Литература; 1997.
5. Клаг У.С., Каммингс М.Р. Основы генетики. Пер. с англ. А.А. Лушниковой, С. М. Мусаткина. М.: Техносфера; 2009.
6. Лопухов Л.В., Эйдельштейн М.В. Полимеразная цепная реакция в клинической микробиологической диагностике. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2000; 2(3): 96–106.
7. Молекулярно-генетический мониторинг в системе эпидемиологического надзора за инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи. Федеральные клинические рекомендации. М.; 2014.
8. Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности. МУ 1.3.2569-09. М.; 2009.
9. Основы полимеразной цепной реакции (ПЦР). Методическое пособие для врачей. М.: ДНК-технология; 2012.
10. Kary Mullis. The Polymerase Chain Reaction. Nobel Lecture 1993. Available at: <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1993/mullis/lecture/> (Accessed 11.10.2021).
11. Mullis K.B. The Unusual Origins of the Polymerase Chain Reaction. Scientific American. 1990; 262(4): 56–65. <https://doi.org/10.1038/scientificamerican0490-56>.
12. Shampo M.A., Kyle R.A., Kary B. Mullis — Nobel Laureate for procedure to replicate DNA. Mayo Clinic Proceedings. 2002; 77(7): 606–742. DOI:10.4065/77.7.606.

## REFERENCES

1. Alekseev V.V., Alipov A.N., Andreev V.A. i dr. Medicinskie laboratornye tekhnologii [Medical laboratory technologies]. Moskva: GEOTAR-Media Publ.; 2013. (in Russian)
2. Vzyatie, transportirovka, khranenie klinicheskogo materiala dlya PCR-diagnostiki [Sampling, transportation and storage of clinical material for PCR-diagnos]. Spravochno-informacionnoe izdanie dlya PCR-laboratoriy. Moskva: InterLabServis Publ.; 2012. (in Russian)
3. Glik B., Pasternak J. Molekulyarnaya biotekhnologiya. Printsipy i primeneniye [Molecular biotechnology: principles and applications of recombinant DNA Per. c angl. Moskva: Mir Publ.; 2002 (in Russian)
4. Gorbunova V.N. Vvedenie v molekulyarnuyu diagnostiku i genoterapiyu nasledstvennyh zabolevanij [Introduction to molecular diagnostics and gene therapy of hereditary diseases]. Sankt-Peterburg: Special'naya Literatura Publ.; 1997. (in Russian)
5. Klag U.S., Kammings M.R. Osnovy genetiki [Concepts of genetics]. Per. s angl. A.A. Lushnikovoy, S.M. Musatkina. Moskva: Tekhnosfera Publ.; 2009. (in Russian)
6. Lopukhov L.B., Edelshteyn M.V. Polimeraznaya tsepnaya reaktsiya v klinicheskoy mikrobiologicheskoy diagnostike [Polymerase chain reaction in clinical microbiological diagnosis]. Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya. 2000; 2(3): 96–106. (in Russian)
7. Molekularno-geneticheskiy monitoring v sisteme epidemiologicheskogo nadzora za infektsiyami, svyazannymi s okazaniem meditsinskoy pomoshchi [Molecular and genetic monitoring in the system of epidemiological surveillance of infections, associated with medical assistance]. Federalnye klinicheskie rekomendatsii. Moskva: 2009. (in Russian)
8. Organizatsiya raboty laboratoriy, ispolzuyushchikh metody amplifikatsii nukleinovyykh kislot pri rabote s materialom, soderzhashchim mikroorganizmy I–IV grupp patogennosti [Management of laboratory work, performing methods of amplification in nucleic acids when investigating pathogenic microorganisms of the risk groups I–IV]. MU 1.3.2569-09. Moskva; 2009. (in Russian)
9. Osnovy polimeraznoy tsepnoy reaktsii (PCR) [Polymerase chain reaction basics]. Metodicheskoe posobie dlya vrachey. Moskva: DNK-tekhnologiya Publ.; 2012. (in Russian)
10. Kary Mullis. The Polymerase Chain Reaction. Nobel Lecture 1993. Available at: <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1993/mullis/lecture/> (Accessed 11.10.2021).
11. Mullis K.B. The Unusual Origins of the Polymerase Chain Reaction. Scientific American. 1990; 262(4): 56–65. <https://doi.org/10.1038/scientificamerican0490-56>.
12. Shampo M.A., Kyle R.A., Kary B. Mullis — Nobel Laureate for procedure to replicate DNA. Mayo Clinic Proceedings. 2002; 77(7): 606–742. DOI:10.4065/77.7.606.



## ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Утв. приказом и.о. ректора  
ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России от 23.06.16

НАСТОЯЩИЕ ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ  
ЯВЛЯЮТСЯ ИЗДАТЕЛЬСКИМ ДОГОВОРОМ

Условия настоящего Договора (далее «Договор») являются публичной офертой в соответствии с п. 2 ст. 437 Гражданского кодекса Российской Федерации. Данный Договор определяет взаимоотношения между редакцией журнала «**Russian Biomedical Research**» (далее по тексту «Журнал»), зарегистрированного Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (РОСКОМНАДЗОР), свидетельство: ПИ № ФС77-74228 от 02 ноября 2018 г. (ранее ПИ № ТУ78-01869 от 17 мая 2016 г.), именуемой в дальнейшем «Редакция» и являющейся структурным подразделением ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России, и автором и/или авторским коллективом (или иным правообладателем), именуемым в дальнейшем «Автор», принявшим публичное предложение (оферту) о заключении Договора.

Автор передает Редакции для издания авторский оригинал или рукопись. Указанный авторский оригинал должен соответствовать требованиям, указанным в разделах «Представление рукописи в журнал», «Оформление рукописи». При рассмотрении полученных авторских материалов Журнал руководствуется «Едиными требованиями к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы» (Intern. committee of medical journal editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals // Ann. Intern. Med. 1997; 126: 36–47).

В Журнале печатаются ранее не опубликованные работы по профилю Журнала.

Журнал не рассматривает работы, результаты которых по большей части уже были опубликованы или описаны в статьях, представленных или принятых для публикации в другие печатные или электронные средства массовой информации. Представляя статью, автор всегда должен ставить редакцию в известность обо всех направлениях этой статьи в печать и о предыдущих публикациях, которые могут рассматриваться как множественные или дублирующие публикации той же самой или очень близкой работы. Автор должен уведомить редакцию о том, содержит ли статья уже опубликованные материалы, и предоставить ссылки на предыдущую, чтобы дать редакции возможность принять решение, как поступить в данной ситуации. Не принимаются к печати статьи, представляющие собой отдельные этапы незавершенных исследований, а также статьи с нарушением «Правил и норм гуманного обращения с биообъектами исследований».

Размещение публикаций возможно только после получения положительной рецензии.

**Все статьи, в том числе статьи аспирантов и докторантов, публикуются бесплатно.**

Подача статей в журнал «Russian Biomedical Research» осуществляется только через онлайн форму с сайта СПбГПМУ: <http://gpma.ru/science/pediatr/> с пометкой «для Russian Biomedical Research».

**Требования к отправке статей**

Перед заполнением анкеты авторам рекомендуется подготовить все необходимые для ввода данные, а также выбрать автора (в случае коллектива авторов статьи), ОТВЕТСТВЕННОГО ЗА ПЕРЕПИСКУ. Для успешного заполнения анкеты необходимо иметь всю указанную информацию и на русском, и на английском языках!!!

Все названия на английском языке, включая названия статьи, названия учреждений, их подразделений должны приводиться с заглавных букв (например: Sex Differences In Aging, Life Span And Spontaneous Tumorigenesis; Bulletin of Experimental Biology and Medicine; Saint Petersburg State Pediatric Medical University) и непременно в соответствии с официальными наименованиями без самостоятельности.

Анкетные данные всех авторов — ФИО (полностью), ученая степень, звание, должность, место работы (кафедра, отделение), название учреждения, адрес учреждения, e-mail, телефон, ФИО автора, ответственного за переписку, и т.д. — заполняются в соответствующих полях формы заявки.

Резюме, ключевые слова и название статьи — также заполняются онлайн.

Статья предоставляется в электронной форме (файл MS Word версии не старше 2003, т.е. с расширением doc, заархивированный в формат .zip, .rar).

Файл статьи называется Фамилией первого автора, например, Иванов.doc или Petrov.doc.

Статья должна соответствовать правилам оформления статей к публикации (см. ниже).

К каждой статье прилагается файл Экспертного Заключение (ЭЗ). Для авторов СПбГПМУ ЭЗ может только подписываться авторами статьи, печать необязательна. Для авторов других учреждений — ЭЗ оформляется обязательно полностью, с печатями (круглая печать учреждения) и подписями руководителей и комиссий данного учреждения. Заполненный, подписанный и «опечатанный» ЭЗ для отправки онлайн предварительно сканируется или фотографируется. Образец ЭЗ можно запросить по адресу: [srccenter@mail.ru](mailto:srccenter@mail.ru)

Отправленные анкетные данные авторов, статья, ЭЗ поступают на E-mail автору-отправителю (для подтверждения и проверки отправки) и на E-mail редакции [scrcenter@mail.ru](mailto:scrcenter@mail.ru) техническому редактору журнала «Russian Biomedical Research», с которым осуществляется вся дальнейшая работа по подготовке статьи в печать. Все вопросы по отправке статей можно адресовать на электронный адрес [scrcenter@mail.ru](mailto:scrcenter@mail.ru) техническому редактору журнала «Russian Biomedical Research» Марии Александровне Пахомовой.

Рукопись считается поступившей в Редакцию, если она представлена комплектно и оформлена в соответствии с описанными требованиями. Предварительное рассмотрение рукописи, не заказанной Редакцией, не является фактом заключения между сторонами издательского Договора.

При представлении рукописи в Журнал Авторы несут ответственность за раскрытие своих финансовых и других конфликтных интересов, способных оказать влияние на их работу. В рукописи должны быть упомянуты все лица и организации, оказавшие финансовую поддержку (в виде грантов, оборудования, лекарств или всего этого вместе), а также другое финансовое или личное участие.

#### Правила оформления статей к публикации

**Статья предоставляется в электронной форме** (файл MS Word версии не старше 2003, т.е. с расширением doc, заархивированный в формат .zip, .rar), шрифт — 14, интервал — полуторный.

Файл статьи называется по Фамилии первого автора, например, Иванов.doc или Petrov.doc. Никаких других слов в названии не должно быть!

Ориентировочные размеры статьи, включая указатель литературы, таблицы и резюме, — 10–12 страниц текста через полтора интервала или 20–25 тысяч знаков с пробелами. Рекомендуемый размер обзора — 18–20 страниц «машинписного» текста или 35–40 тысяч знаков с пробелами. Примерное число литературных ссылок для экспериментальной статьи — 20, для обзоров и проблемных статей — 50.

#### Файл статьи должен содержать

##### НА РУССКОМ И АНГЛИЙСКОМ ЯЗЫКАХ:

- Заглавие (Title) должно быть кратким (не более 120 знаков), точно отражающим содержание статьи.
- Сведения об авторах (публикуются). Для каждого автора указываются: фамилия, имя и отчество, место работы, почтовый адрес места работы, e-mail. Фамилии авторов рекомендуется транслитерировать так же, как в предыдущих публикациях, или по системе BGN (Board of Geographic Names), см. сайт <http://www.translit.ru>.
- Резюме (Summary) (1500–2000 знаков, или 200–250 слов) помещают перед текстом статьи. Резюме не требуется при публикации рецензий, отчетов о конференциях, информационных писем.

Авторское резюме к статье является основным источником информации в отечественных и зарубежных инфор-

мационных системах и базах данных, индексирующих журнал. Резюме доступно на сайте журнала «Russian Biomedical Research» и индексируется сетевыми поисковыми системами. Из аннотации должна быть понятна суть исследования, нужно ли обращаться к полному тексту статьи для получения более подробной, интересующей его информации. Резюме должно излагать только существенные факты работы.

Рекомендуемая структура как аннотации, так и самой статьи IMRAD (для оригинальных исследований структура обязательна): введение (Introduction), материалы и методы (Materials and methods), результаты (Results), обсуждение (Discussion), выводы (Conclusion). Предмет, тему, цель работы нужно указывать, если они не ясны из заглавия статьи; метод или методологию проведения работы целесообразно описывать, если они отличаются новизной или представляют интерес с точки зрения данной работы.

**Объем текста авторского резюме** определяется содержанием публикации (объемом сведений, их научной ценностью и/или практическим значением) и должен быть в пределах **200–250 слов (1500–2000 знаков)**.

- Ключевые слова (Key words) от 3 до 10 ключевых слов или словосочетаний, которые будут способствовать правильному перекрестному индексированию статьи, помещаются под резюме с подзаголовком «ключевые слова». Используйте термины из списка медицинских предметных заголовков (Medical Subject Headings), приведенного в Index Medicus (если в этом списке еще отсутствуют подходящие обозначения для недавно введенных терминов, подберите наиболее близкие из имеющихся). Ключевые слова разделяются точкой с запятой.
- Текст статьи может быть написан либо на русском, либо на английском языке, также возможна публикация статьи с полным переводом. На русском и английском языках необходимо предоставить все рисунки и таблицы (заголовки и все надписи должны иметь перевод).

Структура основного текста статьи: введение, изложение основного материала, заключение, литература. Для оригинальных исследований — введение, методика, результаты исследования, обсуждение результатов, литература (IMRAD). В разделе «методика» обязательно указываются сведения о статистической обработке экспериментального или клинического материала. Единицы измерения даются в соответствии с Международной системой единиц — СИ. Фамилии иностранных авторов, цитируемые в тексте рукописи, приводятся в оригинальной транскрипции.

Таблицы и рисунки приводятся непосредственно в теле статьи, каждый из которых имеет номер и название с обязательными ссылками на них в тексте статьи — в контексте предложения (например: «...как показано на рисунке 1...») или в конце предложения в круглых скобках (например: «...выявлена положительная корреляционная связь умеренной степени ( $r=0,41$ ) между уровнем ТТГ матери и новорожденного (рис. 2)»; просьба учитывать, что

в печатной версии журнала рисунки будут воспроизводиться в черно-белом варианте.

- Список литературы обязательно в алфавитном порядке: сначала все отечественные, затем иностранные авторы с дополнительным транслитерированным списком (методика транслитерации описана подробно ниже).

**Текст статьи** должен быть подготовлен в строгом соответствии с настоящими правилами и тщательно выверен автором. В случае обнаружения значительного количества опечаток, небрежностей, пунктуационных и орфографических ошибок, нерасшифрованных сокращений, отсутствия основных компонентов и других технических дефектов оформления статей редакция возвращает статью автору для доработки. Небольшие погрешности редакция может исправить сама без согласования с автором. Кроме того, редакция оставляет за собой право осуществления литературного редактирования статей.

Сокращений, кроме общеупотребляемых, следует избегать. Сокращения в названии статьи, названиях таблиц и рисунков, в выводах недопустимы. Если аббревиатуры используются, то все они должны быть непременно расшифрованы полностью при первом их упоминании в тексте (например: «Наряду с данными о РОН (резидуально-органической недостаточности), обуславливающей развитие ГКС (гиперкинетического синдрома), расширен диапазон исследований по эндогенной природе данного синдрома»).

**Все цитирования** производятся следующим образом:

ФИО автора, год издания и прочая информация не упоминаются в тексте. Вместо этого указывается ссылка на источник литературы в виде номера в квадратных скобках (пример: «Ряд исследователей отмечает различные нарушения речевых функций при эпилепсии в детском возрасте [17, 21, 22].»), который включен в расставленный в алфавитном порядке список источников в конце статьи.

Все ссылки должны иметь соответствующий источник в списке, а каждый источник в списке — ссылку в тексте.

В виде исключения в тексте могут приводиться ФИО конкретных авторов в формате И. О. Фамилия, год и даже название источника, но при этом все равно обязательна ссылка (в квадратных скобках в конце предложения) на источник, включенный в список литературы.

(Например: «В 1892 году великий Эраст Гамильтонский описал в своем бессмертном труде «Об открытии третьего уха у человека» третье (непарное) ухо» [34].)

### Литература (References)

Учитывая требования международных систем цитирования, список литературы приводится не только в обычном виде, но также и дополнительно в транслитерированном (см. Транслитерация).

В статье приводятся ссылки на все упоминаемые в тексте источники.

Фамилии и инициалы авторов в пристатейном списке приводятся в алфавитном порядке, сначала русского, затем латинского алфавита.

В описании указываются все авторы публикации.

Библиографические ссылки в тексте статьи даются в квадратных скобках.

Ссылки на неопубликованные работы не допускаются.

**Список литературы комплектуется в следующем порядке:**

#### *Нормативные акты*

Приказы, нормативные акты, методические письма и прочие законные акты, патенты, полезные модели не вносятся в список литературы, оформляются в виде сносок. Сноска — примечание, помещаемое внизу страницы (постраничная сноска). Знак сноски ставят цифрой после фрагмента основного текста, где есть упоминание об этих источниках. Рекомендуется сквозная нумерация сносок по тексту.

#### *Интернет-ресурс*

1. Интернет-ресурс, где есть название источника, автор — вносится в список литературы (в порядке алфавита) с указанием даты обращения (см. ниже пример оформления).

2. Если есть только ссылка на сайт — вносится в список литературы в конце, с указанием даты обращения.

Щеглов И. Насколько велика роль микрофлоры в биологии вида-хозяина? Живые системы: научный электронный журнал. Доступен по: [http://www.biorf.ru/catalog.aspx?cat\\_id=396&d\\_no=3576](http://www.biorf.ru/catalog.aspx?cat_id=396&d_no=3576) (дата обращения 02.07.2012).

Kealy M. A., Small R. E., Liamputtong P. Recovery after caesarean birth: a qualitative study of women's accounts in Victoria, Australia. BMC Pregnancy and Childbirth. 2010. Available at: <http://www.biomedcentral.com/1471-2393/10/47/> (Accessed 11.09.2013).

#### *Книга*

Автор(ы) название книги (знак точка) место издания (двоеточие) название издательства (знак точка с запятой) год издания. Если в качестве автора книги выступает редактор, то после фамилии следует ред.

Айламазян Э.К., Новиков Б.Н., Зайнулина М.С., Палинка Г.К., Рябцева И.Т., Тарасова М.А. Акушерство: учебник. 6-е изд. СПб.; 2007.

Преображенский Б.С., Темкин Я.С., Лихачев А.Г. Болезни уха, горла и носа. М.: Медицина; 1968.

Радзинский В.Е., ред. Перинеология: учебное пособие. М.: РУДН; 2008.

Brandenburg J.H., Ponti G.S., Worring A.F. eds. Vocal cord injection with autogenous fat. 3 rd ed. NY: Mosby; 1998.

Domeika M. Diagnosis of genital chlamydial infection in humans as well as in cattle. Uppsala; 1994.

#### *Глава из книги*

Автор(ы) название главы (знак точка) В кн.: или In: далее описание книги [Автор(ы) название книги (знак точка) место издания (двоеточие) название издательства (знак точка с запятой) год издания] (двоеточие) стр. от и до.

Коробков Г.А. Темп речи. В кн.: Современные проблемы физиологии и патологии речи: сб. тр. Т. 23. М.; 1989: 107–11.

*Статья из журнала:*

Автор(ы) название статьи (знак точка) название журнала (знак точка) год издания (знак точка с запятой) том (если есть в круглых скобках номер журнала) затем знак (двоеточие) страницы от и до.

Кирющенко А.П., Совчи М.Г., Иванова П.С. Поликистозные яичники. Акушерство и гинекология. 1994; N 1: 11–4.

Brandenburg J.H., Ponti G.S., Worring A.F. Vocal cord injection with autogenous fat: a long-term magnetic resonance. Laryngoscope. 1996; 106(2,pt 1): 174–80.

Simpson J. et al. Association between adverse perinatal outcomes and serially obtained second and third trimester MS AFP measurements. Am. J. Obstet. Gynecol. 1995; 173: 1742.

Deb S., Campbell B.K., Pincott-Allen C. et al. Quantifying effect of combined oral contraceptive pill on functional ovarian reserve as measured by serum anti-Müllerian hormone and small antral follicle count using three-dimensional ultrasound. Ultrasound. Obstet. Gynecol. 2012; 39 (5): 574–80.

*Тезисы докладов, материалы научных конференций*

Бабий А.И., Левашов М.М. Новый алгоритм нахождения кульминации экспериментального нистагма (миниметрия). III съезд оториноларинг. Беларуси: тез. докл. Минск; 1992: 68–70.

Салов И.А., Маринушкин Д.Н. Акушерская тактика при внутриутробной гибели плода. В кн.: Материалы IV Российского форума «Мать и дитя». М.; 2000; ч. 1: 516–9.

*Авторефераты*

Петров С.М. Время реакции и слуховая адаптация в норме и при периферических поражениях слуха. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб.; 1993.

*Прочее*

World Health Organization. Prevalence and incidence of selected sexually transmitted infections, 2005 global estimates. Geneva: World Health Organization; 2011.

**Транслитерация**

Список литературы подается в двух вариантах: первый на языке оригинала (русскоязычные источники кириллицей, англоязычные латиницей), второй — (References) в романском алфавите (для Scopus и других международных баз данных, повторяя в нем все источники литературы, независимо от того, имеются ли среди них иностранные). Если в списке есть ссылки на иностранные публикации, они полностью повторяются в списке, готовящемся в романском алфавите.

В романском алфавите для русскоязычных источников требуется следующая структура библиографической ссылки: автор(ы) (транслитерация), [перевод названия книги или статьи на английский язык], название источника (транслитерация), выходные данные в цифровом формате, указание на язык статьи в скобках (in Russian).

*Пример:*

Preobrazhenskiy B. S., Temkin Ya. S., Likhachev A. G. Bolezni ukha, gorla i nosa [Diseases of the ear, nose and throat]. M.: Meditsina; 1968. (in Russian).

**Технология подготовки ссылок с использованием системы автоматической транслитерации и переводчика:**

На сайте <http://www.translit.ru> можно бесплатно воспользоваться программой транслитерации русского текста в латиницу. Программа очень простая.

Входим в программу Translit.ru. В окошке «варианты» выбираем систему транслитерации BGN (Board of Geographic Names). Вставляем в специальное поле весь текст библиографии на русском языке и нажимаем кнопку «в транслит».

Копируем транслитерированный текст в готовящийся список References. Переводим на английский язык название книги, статьи, постановления и т.д., переносим его в готовящийся список. **Внимание!** Необходим авторский корректный перевод названия. Автоматический перевод, предполагающий возможное искажение сути названия статьи, недопустим.

Объединяем описания в соответствии с принятыми правилами и редактируем список. В конце ссылки в круглых скобках указывается (in Russian). Ссылка готова.

Примеры транслитерации русскоязычных источников литературы для англоязычного блока статьи.

*Книга:* Avtor (y) Nazvanie knigi (znak tochka) [The title of the book in english]. mesto izdaniya (dvoetochie) nazvanie izdatel'stva (znak tochka s zapyatoy) god izdaniya.

Preobrazhenskiy B. S., Temkin Ya. S., Likhachev A. G. Bolezni ukha, gorla i nosa [Diseases of the ear, nose and throat]. M.: Meditsina; 1968. (in Russian).

Radzinskiy V. E., ed. Perioneologiya: uchebnoe posobie [Perioneology tutorial]. M.: RUDN; 2008. (in Russian).

*Глава из книги:* Avtor (y) nazvanie glavy (znak tochka) [The title of the article in english]. In: Avtor (y) nazvanie knigi (znak tochka) mesto izdaniya (dvoetochie) nazvanie izdatel'stva (znak tochka s zapyatoy) god izdaniya]. (dvoetochie) str. ot i do.

Korobkov G. A. Temp rechi [Rate of speech]. V kn.: Sovremennye problemy fiziologii i patologii rechi: sb. tr. T. 23. M., 1989:107–11. (in Russian).

*Статья из журнала:* Avtor (y) nazvanie stat'i [The title of the article in english] (znak tochka) nazvanie zhurnala (znak tochka) god izdaniya (znak tochka s zapyatoy) tom (esli est' v kruglykh skobkakh nomer zhurnala) zatem znak (dvoetochie) stranitsy ot i do.

Kiryushchenkov A. P., Sovchi M. G., Ivanova P. S. Polikistoznye yaichniki [Polycystic ovary]. Akusherstvo i ginekologiya. 1994; N 1: 11–4. (in Russian).

*Тезисы докладов, материалы научных конференций*

Babiy A. I., Levashov M. M. Novyy algoritm nakhozhdeniya kul'minatsii eksperimental'nogo nistagma (minimetriya) [New algorithm of finding of the culmination experimental nystagmus (minimetriya)]. III s'ezd otorinolaringologov Resp. Belarus': tez. dokl. Minsk; 1992: 68–70. (in Russian).

Salov I. A., Marinushkin D. N. Akusherskaya taktika pri vnutriutrobnoy gibeli ploda [Obstetric tactics in intrauterine fetal death]. V kn.: Materialy IV Rossiyskogo foruma «Mat' i ditya». M.; 2000; ch.1:516–9. (in Russian).

*Авторефераты*

Petrov S. M. Vremya reaktsii i slukhovaya adaptatsiya v norme i pri perifericheskikh porazheniyakh slukha [Time of reaction and



acoustical adaptation in norm and at peripheral defeats of hearing]. PhD thesis. SPb.; 1993. (in Russian).

*Описание Интернет-ресурса*

Shcheglov I. Naskol'ko velika rol' mikroflory v biologii vida-khozyaina? [How great is the microflora role in type-owner biology?]. Zhivye sistemy: nauchnyy elektronnyy zhurnal. Available at: [http://www.biorf.ru/catalog.aspx?cat\\_id=396&d\\_no=3576](http://www.biorf.ru/catalog.aspx?cat_id=396&d_no=3576) (accessed 02.07.2012). (in Russian).

**Пример списка литературы, включающего транслированный вариант:**

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Кофиади И.А. Генетическая устойчивость к заражению ВИЧ и развитию СПИД в популяциях России и сопредельных государств. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.; 2008. Доступен по: <http://www.dnatechnology.ru/files/images/d/0b136b567d25d4be1dfa26a8b39ec2b9.pdf> (дата обращения 18.09.2014).
2. Flynn E., Eyre S., Packham J. Childhood Arthritis Prospective Study (CAPS), UKRAG Consortium, BSPAR Study Group, Barton A., Worthington J., Thomson W. Association of the CCR5 gene with juvenile idiopathic arthritis. *Genes Immun.* 2010; 11 (7): 584–89.

и т.д.

**REFERENCES**

1. Kofadi I.A. Geneticheskaya stoychivost' k zarazheniyu VICH i razvitiyu SPID v populyatsiyakh Rossii i sopredel'nykh gosudarstv [Genetic resistance to HIV infection and development of AIDS in populations of Russia and neighboring countries]. PhD-thesis. M.; 2008. Available from: <http://www.dna-technology.ru/files/images/d/0b136b567d25d4be1dfa26a8b39ec2b9.pdf> (accessed 18.09.2014) (in Russian).
2. Flynn E., Eyre S., Packham J. Childhood Arthritis Prospective Study (CAPS), UKRAG Consortium, BSPAR Study Group, Barton A., Worthington J., Thomson W. Association of the CCR5 gene with juvenile idiopathic arthritis. *Genes Immun.* 2010; 11 (7): 584–89.

Etc.

**Для всех статей, имеющих DOI, индекс необходимо указывать в конце библиографического описания.**

**ОТВЕТСТВЕННОСТЬ ЗА ПРАВИЛЬНОСТЬ БИБЛИОГРАФИЧЕСКИХ ДАННЫХ НЕСЕТ АВТОР.**

**АВТОРСКОЕ ПРАВО**

Редакция отбирает, готовит к публикации и публикует переданные Авторами материалы. Авторское право на конкретную статью принадлежит авторам статьи. Авторский гонорар за публикации статей в Журнале не выплачивается. Автор передает, а Редакция принимает авторские материалы на следующих условиях:

- 1) Редакции передается право на оформление, издание, передачу Журнала с опубликованным материалом Автора для целей реферирования статей из него в Реферативном журнале ВИНТИ, РНИЦ и базах данных, распространение Журнала/авторских материалов в печатных и электронных изданиях, включая размещение на выбранных либо созданных Редакцией сайтах в сети Интернет в целях доступа к публикации в интерактивном режиме любого заинтересованного лица из любого места и в любое время, а также на распространение Журнала с опубликованным материалом Автора по подписке;

- 2) территория, на которой разрешается использовать авторский материал, — Российская Федерация и сеть Интернет;
- 3) срок действия Договора — 5 лет. По истечении указанного срока Редакция оставляет за собой, а Автор подтверждает бессрочное право Редакции на продолжение размещения авторского материала в сети Интернет;
- 4) Редакция вправе по своему усмотрению без каких-либо согласований с Автором заключать договоры и соглашения с третьими лицами, направленные на дополнительные меры по защите авторских и издательских прав;
- 5) Автор гарантирует, что использование Редакцией предоставленного им по настоящему Договору авторского материала не нарушит прав третьих лиц;
- 6) Автор оставляет за собой право использовать предоставленный по настоящему Договору авторский материал самостоятельно, передавать права на него по договору третьим лицам, если это не противоречит настоящему Договору;
- 7) Редакция предоставляет Автору возможность безвозмездного получения справки с электронными адресами его официальной публикации в сети Интернет;
- 8) при перепечатке статьи или ее части ссылка на первую публикацию в Журнале обязательна.

**ПОРЯДОК ЗАКЛЮЧЕНИЯ ДОГОВОРА**

Заключением Договора со стороны Редакции является опубликование рукописи данного Автора в журнале «Russian Biomedical Research» и размещение его текста в сети Интернет. Заключением Договора со стороны Автора, т.е. полным и безоговорочным принятием Автором условий Договора, является передача Автором рукописи и экспертного заключения.

**РЕЦЕНЗИРОВАНИЕ**

Статьи, поступившие в редакцию, обязательно рецензируются. Если у рецензента возникают вопросы, то статья с комментариями рецензента возвращается Автору. Датой поступления статьи считается дата получения Редакцией окончательного варианта статьи. Редакция оставляет за собой право внесения редакторских изменений в текст, не искажающих смысла статьи (литературная и технологическая правка).

**АВТОРСКИЕ ЭКЗЕМПЛЯРЫ ЖУРНАЛА**

Редакция обязуется выдать Автору 1 экземпляр Журнала на каждую опубликованную статью вне зависимости от числа авторов. Авторы, проживающие в Санкт-Петербурге, получают авторский экземпляр Журнала непосредственно в Редакции. Иногородним Авторам авторский экземпляр Журнала высылается на адрес автора по запросу от автора. Экземпляры спецвыпусков не отправляются авторам.

**АДРЕС РЕДАКЦИИ**

194100, Санкт-Петербург, Литовская ул., 2  
e-mail: [scrcenter@mail.ru](mailto:scrcenter@mail.ru). Сайт журнала: [http://www.gpmu.org/science/pediatrics-magazine/Russian\\_Biomedical\\_Research](http://www.gpmu.org/science/pediatrics-magazine/Russian_Biomedical_Research).



## СЕРДЕЧНО-ЛЕГОЧНАЯ РЕАНИМАЦИЯ ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ. БАЗОВЫЙ СИМУЛЯЦИОННЫЙ КУРС

### ЗАНЯТИЯ ПО МЕРЕ КОМПЛЕКТОВАНИЯ ГРУПП

**ПОСЛЕ ОБУЧЕНИЯ ВЫ ОВЛАДЕЕТЕ СЛЕДУЮЩИМИ НАВЫКАМИ:**

- выполнить современный международный протокол проведения сердечно-легочной реанимации у детей и взрослых;
- использовать автоматический наружный дефибриллятор (АНД) и современные средства, обеспечивающие безопасное проведение искусственного дыхания (лицевую маску);
- работать в команде при выполнении базового реанимационного комплекса.



**Категория обучающихся:**

Врачи всех специальностей, медицинские работники среднего звена.

**Форма обучения:** очная.

**Трудоёмкость обучения:** 18 академических часов.

**Количество дней обучения:** 3.

**Количество человек в группе:** 10.

**Стоимость обучения:** 10 000 рублей.

**Место проведения:**

Аккредитационно-симуляционный центр  
Педиатрического университета,  
Санкт-Петербург, Литовская ул., д. 2.

*В результате успешного выполнения дополнительной профессиональной программы повышения квалификации выдётся документ установленного образца – Удостоверение о повышении квалификации.*

Телефон: +7 (812) 416-52-25

Электронная почта: [grmafpk@mail.ru](mailto:grmafpk@mail.ru)

Адрес: г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, д.2,  
Административный корпус, 3-й этаж, кабинет 303

**WWW.GPMU.ORG**

