

МЕЖДУНАРОДНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

# ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

2026, том 15, № 2

Восточная  
Европа

Laboratory Diagnostics Eastern Europe

International Scientific Journal

2026 Volume 15 Number 2



Аквамарин – известный драгоценный минерал, разновидность берилла. Свое красивое название получил от древнеримского писателя Плиния Старшего, который, описывая бериллы, отметил, что наиболее ценные из них – те, что цветом напоминают чистую зелень морских вод (от лат. aqua – вода, mare – море). Льдистая прозрачность и строгость аквамарина сделали его одним из самых популярных камней среди ювелиров эпохи ар-деко. Не утратил своей актуальности в ювелирном искусстве аквамарин и сегодня.

ISSN 2226-5392 (Print)  
ISSN 2522-137X (Online)



ПРОФЕССИОНАЛЬНЫЕ  
ИЗДАНИЯ

МЕЖДУНАРОДНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

# ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

Восточная  
Европа

International Scientific Journal

## Laboratory Diagnostics Eastern Europe

LABORATORNAYA DIAGNOSTIKA VOSTOCHNAYA EVROPA

lab.recipe.by

2026, том 15, № 2

2026 Volume 15 Number 2

Основан в 2011 г.

Founded in 2011

### Беларусь

### Belarus

#### Журнал зарегистрирован

Министерством информации Республики Беларусь  
2 декабря 2011 г.  
Регистрационное свидетельство № 1496

#### The journal is registered

by the Ministry of information of the Republic of Belarus  
on December 2, 2011  
Registration certificate No. 1496

#### Учредитель

УП «Профессиональные издания»

#### Founder

UE "Professional Editions"

#### Редакция:

Директор Л.А. Евтушенко

Заместитель главного редактора А.В. Жабинский

Руководитель службы рекламы и маркетинга М.А. Коваль

Технический редактор Д.В. Нужин

#### Editorial office:

Director L. Evtushenko

Deputy editor-in-chief A. Zhabinski

Head of advertising and marketing department M. Koval

Technical editor D. Nuzhin

#### Адрес:

220040, Республика Беларусь, г. Минск,  
ул. Богдановича, 112, пом. 1Н, офис 3  
Тел.: +375 17 322-16-59  
e-mail: lab@recipe.by

#### Address:

112 Bogdanovicha st., room 1N, office 3,  
Minsk, 220040, Republic of Belarus  
Phone: +375 17 322-16-59  
e-mail: lab@recipe.by

#### Подписка

В каталоге РУП «Белпочта» (Беларусь):  
индивидуальный индекс – 01389, ведомственный индекс – 013892

#### Subscription

In the catalog of the Republican unitary enterprise "Belposhta" (Belarus):  
individual index – 01389, departmental index – 013892

В электронных каталогах на сайтах агентств:  
ООО «Прессинформ», ООО «Криэтив Сервис Бэнд»,  
ООО «Екатеринбург-ОПТ», ООО «Глобалпресс»

In the electronic catalogs on web-sites of agencies:  
LLC "Pressinform", LLC "Kriektiv Servis Bend",  
LLC "Ekaterinburg-OPT", LLC "Globalpress"

Электронная версия журнала доступна на сайте lab.recipe.by,  
в Научной электронной библиотеке eLibrary.ru, в базе данных  
East View, в электронной библиотечной системе IPRbooks

The electronic version of the journal is available on lab.recipe.by,  
on the Scientific electronic library eLibrary.ru,  
in the East View database, in the electronic library system IPRbooks

По вопросам приобретения журнала обращайтесь в редакцию  
Журнал выходит один раз в три месяца  
Цена свободная

Concerning acquisition of the journal address to the editorial office  
The frequency of the journal is 1 time in 3 months  
The price is not fixed

Подписано в печать: 07.05.2026  
Формат 70×100 1/16 (165×240 мм)  
Печать офсетная  
Тираж 1000 экз.  
Заказ №

Sent for the press: 07.05.2026  
Format 70×100 1/16 (165×240 mm)  
Litho  
Circulation is 1000 copies  
Order No.

#### Отпечатано в типографии

Производственное дочернее унитарное предприятие  
«Типография Федерации профсоюзов Беларуси».  
Свидетельство о государственной регистрации издателя,  
изготовителя, распространителя печатных изданий  
№2/18 от 26.11.2013.  
пл.Свободы, 23, каб 94, г. Минск.  
ЛП №02330/54 от 12.08.2013.

#### Printed in printing house

© «Лабораторная диагностика Восточная Европа»  
Авторские права защищены. Любое воспроизведение материалов  
издания возможно только с обязательной ссылкой на источник.  
© УП «Профессиональные издания», 2026  
© Оформление и дизайн УП «Профессиональные издания», 2026

© "Laboratory Diagnostics Eastern Europe"  
Copyright is protected. Any reproduction of materials of the edition  
is possible only with an obligatory reference to the source.  
© UE "Professional Editions", 2026  
© Design and decor of UE "Professional Editions", 2026

**Главные редакторы:**

**Камышников Владимир Семенович,**  
д.м.н., проф. (Беларусь)

**Припутневич Татьяна Валерьевна,**

д.м.н., проф., чл.-корр. РАН, директор Института микробиологии, антимикробной терапии и эпидемиологии Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова, главный внештатный специалист по медицинской микробиологии Министерства здравоохранения Российской Федерации (Россия)

**Редакционная коллегия:**

Алехнович Л.И., к.м.н., доц., Институт повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения Белорусского государственного медицинского университета (Минск, Беларусь)  
Алиева Е.В., д.м.н., доц., Центр подготовки медицинских микробиологов Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования (Москва, Россия)  
Аниско Л.А., к.м.н., Городская клиническая инфекционная больница (Минск, Беларусь)  
Батуревич Л.В., к.м.н., доц., Институт повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения Белорусского государственного медицинского университета (Минск, Беларусь)  
Беляев С.А., Белорусское общество лабораторной медицины (Минск, Беларусь)  
Вавилова Т.В., д.м.н., проф., Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова (Санкт-Петербург, Россия)  
Вергун О.М., к.б.н., доц., Белорусский государственный медицинский университет (Минск, Беларусь)  
Владимирская Т.Э., к.б.н., Институт повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения Белорусского государственного медицинского университета (Минск, Беларусь)  
Гордеев А.Б., к.б.н., Институт микробиологии, антимикробной терапии и эпидемиологии Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова (Москва, Россия)  
Гусина Н.Б., к.м.н., доц., Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя» (Минск, Беларусь)  
Державец Л.А., д.б.н., Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н.Н. Александрова (Минск, Беларусь)  
Долгов В.В., д.м.н., проф., Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова (Москва, Россия)  
Доценко Э.А., д.м.н., проф., Белорусский государственный медицинский университет (Минск, Беларусь)  
Дубровский А.Ч., к.м.н., Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н.Н. Александрова (Минск, Беларусь)  
Иванец Т.Ю., д.м.н., Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова (Москва, Россия)  
Ильина Е.Н., д.б.н., проф., чл.-корр. РАН, Научно-исследовательский институт системной биологии и медицины Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Москва, Россия)  
Кафарская Л.И., д.м.н., проф., Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова (Москва, Россия)  
Коломиец Н.Д., д.м.н., проф., Институт повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения Белорусского государственного медицинского университета (Минск, Беларусь)  
Кольцов И.П., к.м.н., доц., Дальневосточный государственный медицинский университет (Хабаровск, Россия)  
Конева Н.Ю., д.б.н., проф., Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет (Витебск, Беларусь)  
Кочетов А.Г., д.м.н., Российский университет дружбы народов (Москва, Россия)  
Кречетова Л.В., д.м.н., Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова (Москва, Россия)  
Кузьменко А.Т., к.м.н., доц., Институт повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения Белорусского государственного медицинского университета (Минск, Беларусь)  
Лелевич В.В., д.м.н., проф., Гродненский государственный медицинский университет (Гродно, Беларусь)  
Ляликов С.А., д.м.н., проф., Гродненский государственный медицинский университет (Гродно, Беларусь)  
Манаева Н.А., к.б.н., Институт повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения Белорусского государственного медицинского университета (Минск, Беларусь)  
Новикова И.А., д.м.н., проф., Гомельский государственный медицинский университет (Гомель, Беларусь)  
Потапнев М.П., д.м.н., проф., Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий (Минск, Беларусь)  
Прохорова В.И., д.м.н., проф., Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н.Н. Александрова (Минск, Беларусь)  
Ребриков Д.В., д.б.н., проф., проф. РАН, Институт трансляционной медицины Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова (Москва, Россия)  
Смолякова Р.М., д.б.н., проф., Минский областной клинический госпиталь инвалидов Великой Отечественной войны имени П.М. Машерова (Минск, Беларусь)  
Степаненко И.С., д.м.н., доц., Волгоградский государственный медицинский университет (Волгоград, Россия)  
Таганович А.Д., д.м.н., проф., Белорусский государственный медицинский университет (Минск, Беларусь)  
Трофимов Д.Ю., д.б.н., проф., чл.-корр. РАН, Институт репродуктивной генетики Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова (Москва, Россия)

**Рецензируемое издание**

Включено в базы данных Scopus, Ulrich's Periodicals Directory, EBSCO, CNKI, РИНЦ.

Включено в перечни Высших аттестационных комиссий Республики Беларусь и Российской Федерации.

Ответственность за точность приведенных фактов, цитат, собственных имен и прочих сведений, а также за разглашение закрытой информации несут авторы.

Редакция может публиковать статьи в порядке обсуждения, не разделяя точку зрения автора.

Ответственность за содержание рекламных материалов и публикаций с пометкой «На правах рекламы» несут рекламодатели.

МЕЖДУНАРОДНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

# ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

Восточная  
Европа

International Scientific Journal

## Laboratory Diagnostics Eastern Europe

LABORATORNAYA DIAGNOSTIKA VOSTOCHNAYA EVROPA

lab.recipe-russia.ru

2026, том 15, № 2

2026 Volume 15 Number 2

Основан в 2011 г.

Founded in 2011

### Россия

#### Журнал зарегистрирован

Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор) 25 августа 2023 г. Реестровая запись ПИ № ФС77-85799

#### Учредитель и издатель

ООО «Вилин – Профессиональные издания»

#### Редакция:

Директор А.В. Сакмаров

Главный редактор Т.В. Припутневич

#### Адрес редакции и издателя:

214522, Смоленская обл., Смоленский р-н, с.п. Катынский, п. Автoremзавод, д. 1А, пом. 413  
Тел.: +7 4812 515923  
e-mail: lab@recipe.by

#### Подписка

В электронных каталогах на сайтах агентств:  
ООО «Прессинформ», ООО «Криэтив Сервис Бэнд»,  
ООО «Екатеринбург-ОПТ», ООО «Глобалпресс»

Электронная версия журнала доступна на сайте lab.recipe-russia.ru, в Научной электронной библиотеке eLibrary.ru, в базе данных East View, в электронной библиотечной системе IPRbooks

Подписано в печать: 07.05.2026  
Дата выхода в свет: 18.05.2026  
Формат 70×100<sup>1/16</sup> (165×240 мм)  
Печать офсетная  
Тираж 3000 экз.  
Заказ №  
16+

Журнал выходит один раз в три месяца  
Цена свободная

#### Отпечатано в типографии

Производственное дочернее унитарное предприятие «Типография Федерации профсоюзов Беларуси». Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя, распространителя печатных изданий №2/18 от 26.11.2013. пл.Свободы, 23, каб 94, г. Минск. ЛП №02330/54 от 12.08.2013.

#### © «Лабораторная диагностика Восточная Европа»

Авторские права защищены.  
Любое воспроизведение материалов издания возможно только с обязательной ссылкой на источник.  
© ООО «Вилин – Профессиональные издания», 2026

### Russia

#### The journal is registered

by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology, and Mass Media (Roskomnadzor) on August 25, 2023 Registry entry ПИ No. ФС77-85799

#### Founder and Publisher

LLC "Vilin – Professional Editions"

#### Editorial office:

Director A. Sakmarov

Editor-in-Chief T. Priputnevich

#### Editorial and publisher address:

214522, Smolensk region, Smolensk district, rural settlement Katynskoye, Avtoremzavod village, 1A, office 413  
Phone: +7 4812 515923  
e-mail: lab@recipe.by

#### Subscription

In the electronic catalogs on web-sites of agencies:  
LLC "Pressinform", LLC "Krievitv Servis Bend",  
LLC "Ekaterinburg-OPT", LLC "Globalpress"

The electronic version of the journal is available on lab.recipe-russia.ru, on the Scientific electronic library eLibrary.ru, in the East View database, in the electronic library system IPRbooks

Sent for the press: 07.05.2026  
Release date: 18.05.2026  
Format 70×100<sup>1/16</sup> (165×240 mm)  
Litho  
Circulation is 3000 copies  
Order No.  
16+

The frequency of the journal is 1 time in 3 months  
The price is not fixed

#### Printed in printing house

#### © "Laboratory Diagnostics Eastern Europe"

Copyright is protected.  
Any reproduction of materials of the edition is possible only with an obligatory reference to the source.  
© LLC "Vilin – Professional Editions", 2026

**Editors-in-Chief:**

**Vladimir S. Kamyshnikov,**  
Dr. of Med. Sci., Prof. (Belarus)

**Tatiana V. Priputnevich,**

Dr. of Med. Sci., Prof., Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Institute of Microbiology, Antimicrobial Therapy and Epidemiology of the National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov, Head Specialist in Medical Microbiology of the Ministry of Health of the Russian Federation (Russia)

**Editorial Board:**

Alekhnovich L., Cand. of Med. Sci., Assoc. Prof., Institute of Advanced Training and Retraining of Healthcare Personnel of the Belarusian State Medical University (Minsk, Belarus)

Alieva E., Dr. of Med. Sci., Assoc. Prof., Center for Training of Medical Microbiologists of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (Moscow, Russia)

Anisko L., Cand. of Med. Sci., City Clinical Infectious Diseases Hospital (Minsk, Belarus)

Baturevich L., Cand. of Med. Sci., Assoc. Prof., Institute of Advanced Training and Retraining of Healthcare Personnel of the Belarusian State Medical University (Minsk, Belarus)

Beliaev S., Belarusian Society of Laboratory Medicine (Minsk, Belarus)

Derzhavets L., Dr. of Biol. Sci., N. N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus (Minsk, Belarus)

Dolgov V., Dr. of Med. Sci., Prof., Pirogov Russian National Research Medical University (Moscow, Russia)

Dotsenko E., Dr. of Med. Sci., Prof., Belarusian State Medical University (Minsk, Belarus)

Dubrovsky A., Cand. of Med. Sci., N. N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus (Minsk, Belarus)

Gordeev A., Cand. of Biol. Sci., Institute of Microbiology, Antimicrobial Therapy and Epidemiology of the National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov (Moscow, Russia)

Gusina N., Cand. of Med. Sci., Assoc. Prof., Republican Scientific and Practical Center "Mother and Child" (Minsk, Belarus)

Iliina E., Dr. of Biol. Sci., Prof., Corresponding Member of RAS, Research Institute for Systems Biology and Medicine of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Moscow, Russia)

Ivanets T., Dr. of Med. Sci., National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov (Moscow, Russia)

Kafarskaya L., Dr. of Med. Sci., Prof., Pirogov Russian National Research Medical University (Moscow, Russia)

Kochetov A., Dr. of Med. Sci., Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University) (Moscow, Russia)

Kolomiets N., Dr. of Med. Sci., Prof., Institute of Advanced Training and Retraining of Healthcare Personnel of the Belarusian State Medical University (Minsk, Belarus)

Koltsov I., Cand. of Med. Sci., Assoc. Prof., Far Eastern State Medical University (Khabarovsk, Russia)

Konevalova N., Dr. of Biol. Sci., Prof., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University (Vitebsk, Belarus)

Krechetova L., Dr. of Med. Sci., National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov (Moscow, Russia)

Kuzmenko A., Cand. of Med. Sci., Assoc. Prof., Institute of Advanced Training and Retraining of Healthcare Personnel of the Belarusian State Medical University (Minsk, Belarus)

Lelevich V., Dr. of Med. Sci., Prof., Grodno State Medical University (Grodno, Belarus)

Lyalikov S., Dr. of Med. Sci., Prof., Grodno State Medical University (Grodno, Belarus)

Manaeva N., Cand. of Biol. Sci., Institute of Advanced Training and Retraining of Healthcare Personnel of the Belarusian State Medical University (Minsk, Belarus)

Novikova I., Dr. of Med. Sci., Prof., Gomel State Medical University (Gomel, Belarus)

Potapnev M., Dr. of Med. Sci., Prof., Republican Scientific and Practical Center for Transfusiology and Medical Biotechnology (Minsk, Belarus)

Prokhorova V., Dr. of Med. Sci., Prof., N. N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus (Minsk, Belarus)

Rebrikov D., Dr. of Biol. Sci., Prof., Prof. of RAS, Institute of Translational Medicine of the National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov (Moscow, Russia)

Smolyakova R., Dr. of Biol. Sci., Prof., Minsk Regional Clinical Hospital for Disabled Veterans of the Great Patriotic War named after P.M. Masherov (Minsk, Belarus)

Stepanenko I., Dr. of Med. Sci., Assoc. Prof., Volgograd State Medical University (Volgograd, Russia)

Taganovich A., Dr. of Med. Sci., Prof., Belarusian State Medical University (Minsk, Belarus)

Trofimov D., Dr. of Biol. Sci., Prof., Corresponding Member of RAS, Institute of Reproductive Genetics of the National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov (Moscow, Russia)

Vavilova T., Dr. of Med. Sci., Prof., Almazov National Medical Research Centre (Saint Petersburg, Russia)

Vergun O., Cand. of Biol. Sci., Assoc. Prof., Belarusian State Medical University (Minsk, Belarus)

Vladimirskaia T., Cand. of Biol. Sci., Institute of Advanced Training and Retraining of Healthcare Personnel of the Belarusian State Medical University (Minsk, Belarus)

---

**Peer-Reviewed Edition**

Included in the databases Scopus, Ulrich's Periodicals Directory, EBSCO, CNKI, RSCI.

Included in the lists of the Higher Attestation Commissions of the Republic of Belarus and the Russian Federation.

Responsibility for the accuracy of the given facts, quotes, own names and other data, and also for disclosure of the classified information authors bear.

Editorial staff can publish articles as discussion, without sharing the point of view of the author.

Responsibility for the content of advertising materials and publications with the mark "As advertisement" are advertisers.

Уважаемые читатели!

Представленный вашему вниманию очередной номер международного научно-практического журнала «Лабораторная диагностика Восточная Европа» традиционно включает в себя 15 статей. Многие из этих публикаций посвящены новой информации, касающейся использования молекулярно-биологических методов исследования в клинической лабораторной практике. Если в предыдущем выпуске статьи по реализации этих видов исследования имели более фундаментальный характер, ориентированный главным образом на разработку новых и дальнейшее усовершенствование ранее известных технологий молекулярно-генетического исследования, то в этом они имеют в основном научно-практический характер, отражающий накопленный авторами достаточно большой опыт применения технологий молекулярно-генетического исследования в клинической практике.

Все статьи распределены по шести рубрикам: «Клиническая микробиология», «Клиническая цитология», «Молекулярно-биологические исследования», «Клинико-лабораторная эпидемиология», «Клинико-лабораторная информатика», «Экспериментальные исследования». Особенность их содержания – отражение новизны исследований, касающейся в том числе и проблем антибиотикорезистентности, диагностики онкологических заболеваний, нефропатий, поражений кишечника, формирования висцерального ожирения и других патологических состояний.

Две статьи посвящены использованию молекулярно-генетических методов исследования в клинико-лабораторной практике. Авторами одной из них в качестве биомаркеров почечно-клеточной меланомы, рака молочной железы и рака легкого предложен новый лабораторный тест, основанный на оценке экспрессии микроРНК в микровезикулах тромбоцитов, авторами другой установлена роль полиморфизма генов провоспалительных цитокинов в становлении лекарственно-индуцированного синдрома удлиненного интервала QT.

Пять статей попадают в область интересов специальности «клиническая микробиология». Совместное исследование белорусских и российских ученых показало частоту распространенности генетических мутаций, влияющих на формирование устойчивости к фторхинолонам *Mycoplasma genitalium*.

Не могут не привлечь внимания результаты апробации реализуемого с использованием соответствующего набора реагентов квантиферонового теста диагностики латентно протекающей у ВИЧ-инфицированных пациентов туберкулезной инфекции.



---

Пять статей посвящены клинико-лабораторной информатике. В них отражены новые направления и схемы лабораторной диагностики заболеваний внутренних органов. Заслуживает особого внимания представленный участниками белорусской научной школы клинической биохимии обзор собственных и других известных из литературы данных о биохимических синдромах, сопровождающих как заурядные, так и экстремальные проявления отдельных форм патологии, при этом уделено внимание и новым методологическим аспектам их моделирования, в том числе на беспозвоночных.

В рубрике «Клиническая цитология» проиллюстрирован редкий случай, отражающий феномен эмбриоплеза, то есть поглощения мегакариоцитами костного мозга других клеток («клетка в клетке»), который был обнаружен у ребенка, с рождения страдающего инфекционными заболеваниями вследствие дисфункции иммунной системы.

Хочется надеяться, что вся представленная в данном номере журнала информация окажется востребованной в практической деятельности как специалистов клинической лабораторной диагностики, так и врачей-клиницистов, уделяющих должное внимание вопросам лабораторной медицины.

Главный редактор в Беларуси  
Владимир Семенович Камышников



**Клиническая микробиология / Молекулярно-генетические исследования антибиотикорезистентности**  
*Маджарова О.А., Эйдельштейн И.А., Абельская И.С., Карпов И.А., Сухобокова Н.Н., Лапука М.О., Чернякова Н.И., Романов А.В., Козлов Р.С.*  
Состояние устойчивости к фторхинолонам клинических изолятов *Mycoplasma genitalium* пациентов Республики Беларусь по результатам эпидемиологического исследования за период с марта 2022 по март 2024 г. ....183

**Клиническая микробиология / Новые направления исследования антибиотикорезистентности**  
*Новак А.И., Канина И.В., Назарян А.Р., Зубцова Ю.В., Зайцев М.В.*  
Стратегия преодоления устойчивости *Staphylococcus aureus* к антибактериальным средствам на основе использования феномена фагоантибиотической синергии .....196

**Клиническая микробиология / Антибиотикорезистентность при инфекциях мочевыводящих путей: новые направления ее преодоления**  
*Хайралла Юмайр Халиф Альхадида, Хайдер Радхи Малих*  
Влияние фенольных соединений растения *Tamarix arhylla* на выделенные у пациентов с инфекциями мочевыводящих путей штаммы *E. coli*, несущие ген *fim-H* .....204

**Клиническая микробиология / Передовые технологии в лабораторной медицине**  
*Рогачева Т.А., Анисько Л.А., Бакур Н.Г.*  
Современные возможности диагностики латентной туберкулезной инфекции у ВИЧ-инфицированных пациентов с использованием квантиферонового теста, реализуемого с применением лабораторно-диагностической системы QuantiFERON-TB Gold Plus .....211

**Клиническая микробиология / Оригинальные исследования**  
*Зена Лоай Абдул Джаббар, Асмаа М. Салих Альмохаиди*  
Генетическое разнообразие оперона *PvcABCD* в различных клинических изолятах *P. aeruginosa* .....221

**Клиническая цитология / Иллюстрация феномена «клетка в клетке»**  
*Прокопьева М.В., Ахмадуллина Ю.А., Корноухова Л.А., Салыхова Р.М., Гильманов А.Ж.*  
Клинический случай тотального эмпериполоза в педиатрической практике .....234

**Молекулярно-биологические исследования / Передовые технологии ПЦР-анализа в кардиологии**  
*Колоцей Л.В., Гладкий М.Л.*  
Полиморфизм генов провоспалительных цитокинов у пациентов с синдромом удлинённого интервала QT .....241

**Молекулярно-биологические исследования / Инновации в лабораторной диагностике онкологических заболеваний**  
*Дремук И.А., Шляхтунов Е.А., Пашинская Е.С., Усова В.А., Староселец А.В., Лукьяненко Л.М., Свешикова А.Н., Шамова Е.В.*  
Экспрессия микроРНК в микровезикулах тромбоцитов пациентов с различными формами онкологической патологии: пилотное исследование .....254

**Клинико-лабораторная эпидемиология / Молекулярно-генетические исследования в онкологии**  
*Руденкова Т.В., Костюк С.А., Климкович Н.Н., Козич Ж.М.*  
Распространенность однонуклеотидных полиморфизмов в генах *ATM* и *DIS3* у пациентов с плазмоклеточными новообразованиями .....266

**Клинико-лабораторная информатика / Новые представления о содружественном изменении показателей клинико-лабораторных тестов при тяжелых формах нефропатии**

*Эфендиева Г.М., Азизова Г.И., Багирова С.А., Азизова У.Г.*  
Состояние метаболических факторов регуляции обмена железа при его функциональном дефиците у пациентов с терминальной стадией хронической болезни почек .....278

**Клинико-лабораторная информатика / Инновации в метаболической диагностике нарушений функции мочевыводящих путей**

*Мамедов И.С., Перевезенцев О.А., Золкина И.В., Туров Ф.О., Крапивкин А.И.*  
Метаболомные маркеры обструктивных заболеваний мочевыводящих путей у детей .....291

**Клинико-лабораторная информатика / Новые направления лабораторно-диагностических исследований при ожирении**

*Хайри Хуссейн Ильяс, Третьякова О.М.*  
Критерии гендерных различий в оценке показателей метаболической связи формирования ожирения с состоянием выраженности оксидативного стресса и воспаления .....299

**Клинико-лабораторная информатика / Новые лабораторные критерии оценки выраженности воспалительного процесса при язвенном колите**

*Худа Муханна Редха Аль-Хамаша, Али Хамдан Абдулла Абас Альмосави, Рагда Хатем Омран, Фатима Самир Абдель Разак*  
Оценка особенностей состояния биохимических факторов воспалительного процесса и их влияния на количественное содержание и морфологическую структуру тромбоцитов у лиц, страдающих повреждением кишечника при язвенном колите .....311

**Клинико-лабораторная информатика / Алгоритмы метаболической диагностики соматических заболеваний**

*Балаева-Тихомирова О.М., Данченко Е.О., Пинчук П.Ю., Чиркин А.А.*  
Биохимические синдромы при устойчивых нарушениях основных видов обмена веществ и экстремальных проявлениях отдельных форм соматической патологии: методологические аспекты их моделирования (обзор литературы) .....319

**Экспериментальные исследования / Новые направления метаболической коррекции формирования висцерального ожирения**

*Митюкова Т.А., Басалай А.А., Полулях О.Е., Костюченко Н.С., Бартош А.Е.*  
Влияние лактоферринов на состояние про- и антиоксидантного статуса и энергетические метаболические процессы в ткани головного мозга крыс при диет-индуцированном висцеральном ожирении .....333

**Clinical Microbiology / Molecular Genetic Research of Antibiotic Resistance**

*Majarova O., Eidelstein I., Abelskaya I., Karpov I., Sukhobokova N., Lapuka M., Chernyakova N., Romanov A., Kozlov R.*  
Fluoroquinolone Resistance Status of Clinical Isolates of Mycoplasma Genitalium in Patients of the Republic of Belarus as per the Results of an Epidemiological Study Conducted from March 2022 to March 2024 ..... 184

**Clinical Microbiology / New Directions for Antibiotic Resistance Research**

*Novak A., Kanina I., Nazaryan A., Zubitsova Yu., Zaitsev M.*  
A Strategy for Overcoming Staphylococcus Aureus Resistance to Antibacterial Agents Based on the Phenomenon of Phage-Antibiotic Synergy ..... 197

**Clinical Microbiology / Antibiotic Resistance in Urinary Tract Infections: New Directions for Overcoming It**

*Khayrallah Eumayr Khalif Alhadidi, Haider Radhi Malih*  
Effects of Phenolic Compounds Isolated from Tamarix Aphylla on E. Coli Carrying the Fim-H Gene Isolated from Patients with Urinary Tract Infections ..... 203

**Clinical Microbiology / Advanced Technologies in Laboratory Medicine**

*Rogacheva T., Anisko L., Bayur N.*  
Modern Opportunities for Diagnosing Latent Tuberculosis Infection in HIV-infected Patients Using the QuantiFERON Test, Implemented by the QuantiFERON-TB Gold Plus Laboratory Diagnostic System ..... 212

**Clinical Microbiology / Original Research**

*Zena Loay Abdul Jabbar, Asmaa M. Salih Almohaidi*  
PvcABCD Operon Genetic Diversity in Different Clinical P. aeruginosa Isolates ..... 220

**Clinical Cytology / Illustration of the "Cell-in-cell" Phenomenon**

*Prokopieva M., Akhmadullina Yu., Kornoukhova L., Salyakhova R., Gilmanov A.*  
Total Emperipolisis in Pediatric Practice: A Case Report ..... 235

**Molecular Biological Research / Advanced PCR Analysis Technologies in Cardiology**

*Kalatsei L., Hladki M.*  
Polymorphism of Proinflammatory Cytokine Genes in Patients with Long QT Syndrome ..... 242

**Molecular Biological Research / Innovations in Laboratory Diagnostics of Oncological Diseases**

*Dremuk I., Shliakhtunou Y., Pashinskaya E., Usova V., Staroselets A., Lukyanenko L., Sveshnikova A., Shamova E.*  
MicroRNA Expression in Platelet Microvesicles of Patients with Different Forms of Oncological Pathology: A Pilot Study ..... 253

**Clinical and Laboratory Epidemiology / Molecular Genetic Research in Oncology**

*Rudenkova T., Kostiuk S., Klimkovich N., Kozich J.*  
Prevalence of Single Nucleotide Polymorphisms in the ATM and DIS3 Genes in Patients with Plasma Cell Neoplasms ..... 267

**Clinical Laboratory Informatics / New Concepts on the Concomitant Changes in Clinical Laboratory Test Indicators in Severe Forms of Nephropathy**

*Efendiyeva G., Azizova G., Baghirova S., Azizova U.*  
Metabolic Factors Regulating Iron Metabolism in Functional Iron Deficiency among Patients with End-Stage Chronic Kidney Disease ..... 279

**Clinical Laboratory Informatics /  
Innovations in Metabolic Diagnostics  
of Urinary Tract Disorders**

*Mamedov I., Perevesentsev O., Zolkina I.,  
Turov F., Krapivkin A.*

Metabolomic Markers of Obstructive  
Urinary Tract Diseases in Children ..... 292

**Clinical Laboratory Informatics /  
New Directions of Laboratory Diagnostic  
Research in Obesity**

*Khairi Hussein Ilyas, Tratsiakova V.*

Criteria for Gender Differences  
in Assessing the Indicators  
of the Metabolic Relationship  
Between the Formation of Obesity  
and the Severity of Oxidative Stress  
and Inflammation ..... 298

**Clinical Laboratory Informatics /  
New Laboratory Criteria  
for Assessing the Severity  
of the Inflammatory Process  
in Ulcerative Colitis**

*Huda Muhanna Redha Al-Hamashi,  
Ali Hamdan Abdullah Abaas Almosawy,  
Raghda Hatem Omran,  
Fatima Samir Abdel Razak*

Assessment of Features of Biochemical  
Factors Associated with the Inflammatory  
Process and Their Impact on the Count  
and Morphological Structure of Blood  
Platelets in Individuals with Intestinal  
Damages Due to Ulcerative Colitis ..... 310

**Clinical Laboratory Informatics /  
Algorithms for Metabolic Diagnostics  
of Somatic Diseases**

*Balaeva-Tikhomirova O., Danchenko E.,  
Pinchuk P., Chirkin A.*

Biochemical Syndromes in Stable Disorders  
of the Main Types of Metabolism  
and Extreme Manifestations of Certain  
Forms of Somatic Pathology:  
Methodological Aspects  
of their Modeling (a Literature Review) .... 320

**Experimental Research / New Directions  
of Metabolic Correction of Visceral  
Obesity Formation**

*Mityukova T., Basalai A., Poluliakh O.,  
Kastsyuchenka M., Bartosh A.*

Effect of Lactoferrins on the State  
of Pro- and Antioxidate Status  
and Energy Metabolic Processes  
in Brain Tissue of Rats with Diet-Induced  
Visceral Obesity ..... 334



<https://doi.org/10.34883/PI.2026.15.2.001>



Маджарова О.А.<sup>1</sup>✉, Эйдельштейн И.А.<sup>2</sup>, Абельская И.С.<sup>1</sup>, Карпов И.А.<sup>3</sup>,  
Сухобокова Н.Н.<sup>4</sup>, Лапука М.О.<sup>5</sup>, Чернякова Н.И.<sup>6</sup>, Романов А.В.<sup>2</sup>, Козлов Р.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Республиканский клинический медицинский центр Управления делами  
Президента Республики Беларусь, Минск, Беларусь

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии Смоленского  
государственного медицинского университета, Смоленск, Россия

<sup>3</sup> Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

<sup>4</sup> Минский городской клинический центр дерматовенерологии, Минск, Беларусь

<sup>5</sup> Брестский областной кожно-венерологический диспансер, Брест, Беларусь

<sup>6</sup> Витебский областной клинический центр дерматовенерологии и косметологии,  
Витебск, Беларусь

## Состояние устойчивости к фторхинолонам клинических изолятов *Mycoplasma genitalium* пациентов Республики Беларусь по результатам эпидемиологического исследования за период с марта 2022 по март 2024 г.

**Конфликт интересов:** не заявлен.

**Вклад авторов:** концепция и дизайн исследования, редактирование, сбор материала, обработка, написание текста – Маджарова О.А.; концепция и дизайн исследования, редактирование, обработка данных – Эйдельштейн И.А.; анализ материала – Романов А.В.; концепция и организация проекта – Козлов Р.С., Абельская И.С., Карпов И.А.; сбор материала – Сухобокова Н.Н., Лапука М.О., Чернякова Н.И.

Подана: 08.07.2025

Принята: 03.02.2026

Контакты: o.madjarova@mail.ru

### Резюме

**Цель.** Изучить распространенность и спектр маркеров резистентности к фторхинолонам у *Mycoplasma genitalium*, выделенной от пациентов 3 областных центров (Брест, Витебск, Минск) Республики Беларусь, обратившихся за медицинской помощью в лечебно-профилактические учреждения за период с марта 2022 по март 2024 г.

**Материалы и методы.** 322 образца ДНК *Mycoplasma genitalium*, представленных из 3 областных центров (Брест, Витебск, Минск) Республики Беларусь, анализировались на наличие маркеров резистентности к фторхинолонам. Выявление мутаций, вызывающих изменения аминокислот (aa) в областях QRDR parC (положения aa 79-84) и gyrA (положения aa 83-87), осуществляли с использованием модифицированного метода полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с эффектом гашения флюоресценции зонда праймером. Для подтверждения характера нуклеотидной замены использовался метод секвенирования по Сэнгеру соответствующих фрагментов гена.

**Результаты.** За период с марта 2022 по март 2024 г. по Республике Беларусь частота распространения мутаций резистентности к фторхинолонам у *M. genitalium* составила 18,63% (60/322). В ходе анализа на наличие маркеров резистентности к фторхинолонам было установлено отсутствие мутаций в гене gyrA. Выявлено 7 вариантов мутаций в гене parC. Доминирующие позиции в общей структуре выявленных

вариантов аминокислотных замен в гене *parC* занимают: S80I (Ser-80-Ile) – 8,7%, D84N (Asp-84-Asn) – 5,9%, S80N (Ser80-Asn) – 2,79%. Распространенность резистентности к фторхинолонам у *M. genitalium* по областным городам составила: в Минске – 26% (49/199), Бресте – 5% (5/90), Витебске – 18% (6/33). В Бресте и Минске преобладал одинаковый вариант аминокислотной замены S80I (Ser-80-Ile) *parC*, в Витебске – S80N (Ser80-Asn) *parC*. Результаты депонированы и импортированы на онлайн-платформу для анализа и обмена данными антибиотикорезистентности AMRcloud (<https://amrcloud.net/ru/project/demares/>).

**Заключение.** Выявленный уровень резистентности к фторхинолонам у *M. genitalium* демонстрирует актуальность этой проблемы для Республики Беларусь. Проведение мониторинга резистентности к противомикробным препаратам и данные, полученные в ходе таких исследований, должны использоваться для регулярного обновления национальных руководств.

**Ключевые слова:** *Mycoplasma genitalium*, фторхинолоны, резистентность, антибактериальные препараты, мутации, QRDR *parC*

---

Majarova O.<sup>1</sup>✉, Eidelstein I.<sup>2</sup>, Abelskaya I.<sup>1</sup>, Karpov I.<sup>3</sup>, Sukhobokova N.<sup>4</sup>, Lapuka M.<sup>5</sup>, Chernyakova N.<sup>6</sup>, Romanov A.<sup>2</sup>, Kozlov R.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Republican Clinical Medical Center of the Administration of the President of the Republic of Belarus, Minsk, Belarus

<sup>2</sup> Institute of Antimicrobial Chemotherapy of the Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia

<sup>3</sup> Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

<sup>4</sup> Minsk City Clinical Center of Dermatovenerology, Minsk, Belarus

<sup>5</sup> Brest Regional Dermatovenerological Dispensary, Brest, Belarus

<sup>6</sup> Vitebsk Regional Clinical Center of Dermatovenerology and Cosmetology, Vitebsk, Belarus

## Fluoroquinolone Resistance Status of Clinical Isolates of *Mycoplasma Genitalium* in Patients of the Republic of Belarus as per the Results of an Epidemiological Study Conducted from March 2022 to March 2024

**Conflict of interest:** nothing to declare.

**Authors' contribution:** study concept and design, editing, collection of material, processing, text writing – Majarova O.; study concept and design, editing, processing – Eidelstein I.; analysis of material – Romanov A., project concept and administration – Kozlov R., Abelskaya I., Karpov I.; material collecting – Sukhobokova N., Lapuka M., Chernyakova N.

Submitted: 08.07.2025

Accepted: 03.02.2026

Contacts: o.madzharova@mail.ru

---

### Abstract

**Purpose.** To investigate the prevalence and spectrum of fluoroquinolone resistance markers in *M. genitalium* isolated from patients in three regional centers (Brest, Vitebsk,



and Minsk) of the Republic of Belarus addressed for medical care in healthcare facilities between March 2022 and March 2024.

**Materials and methods.** A total of 322 DNA samples of *Mycoplasma genitalium* from three regional centers (Brest, Vitebsk, and Minsk) of the Republic of Belarus were tested for fluoroquinolone resistance markers. The identification of mutations causing amino acid (aa) changes in the QRDR regions of *parC* (aa 79-84) and *gyrA* (aa 83-87) was carried out using a modified real-time polymerase chain reaction method with primer-quenching of probe fluorescence. To confirm the nature of nucleotide substitutions, the Sanger sequencing method was used to sequence the corresponding gene fragments.

**Results.** For the period from March 2022 to March 2024 in the Republic of Belarus, the incidence of fluoroquinolone resistance mutations in *M. genitalium* was 18.63% (60/322). During the analysis for fluoroquinolone resistance markers presence, no mutations were found in the *gyrA* gene. 7 variants of mutations were identified in the *parC* gene. The dominant positions in the overall structure of the identified amino acid substitutions variants in the *parC* gene belong to: S80I (Ser-80-Ile) with 8.7%, D84N (Asp-84-Asn) with 5.9%, and S80N (Ser-80-Asn) with 2.79%. The prevalence of resistance against fluoroquinolones in *M. genitalium* in regional cities was as follows: in Minsk 26% (49/199), in Brest 5% (5/90), and in Vitebsk 18% (6/33). In Brest and Minsk, the same amino acid substitution S80I (Ser-80-Ile) *parC* prevails, while in Vitebsk, S80N (Ser80-Asn) *parC* is prevalent. The results were deposited and imported into the AMRcloud online platform for the analysis and exchange of antibiotic resistance data (<https://amrcloud.net/ru/project/demares/>).

**Conclusion.** The identified level of resistance against fluoroquinolones in *M. genitalium* demonstrates the relevance of this issue for the Republic of Belarus. Antimicrobial resistance monitoring and the data obtained from such studies should be used for regular updates of the national guidelines.

**Keywords:** *Mycoplasma genitalium*, fluoroquinolones, resistance, antibacterial drugs, mutations, QRDR *parC*

## ■ ВВЕДЕНИЕ

*Mycoplasma genitalium* (MGE) – это облигатный патоген [1], являющийся этиологическим фактором таких заболеваний, как уретрит у лиц обоего пола [1], цервицит и воспалительные заболевания органов малого таза (ВЗОМТ) у женщин, к тому же способный вызывать осложнение течения беременности и родов [2, 3].

Отсутствие клеточной стенки у MGE предопределяет ограниченное применение групп антибактериальных препаратов в пользу тетрациклинов, макролидов и фторхинолонов, чей механизм действия направлен на ингибирование репликации ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота) и синтеза белка. Тем не менее способность к быстрому формированию устойчивости к препаратам, применяемым для элиминации возбудителя, обуславливает актуальную к настоящему времени проблему стремительного роста уровня резистентности у *M. genitalium* [4–6].

Специалистами Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в рамках Глобальной стратегии сектора здравоохранения по инфекциям, передаваемым половым путем, на 2022–2030 гг. *M. genitalium* присвоен статус возбудителя инфекций,

передаваемых половым путем, с потенциальной устойчивостью к противомикробным препаратам [7].

Последние редакции 2021 года международных руководств, посвященных диагностике и терапии *M. genitalium*-инфекции, пересмотрены с учетом новых тенденций в проблеме возрастающей резистентности у MGE [8, 9]. Экспертами предложены схемы применения антибактериальных препаратов, учитывающие вероятность первоначального инфицирования пациента штаммами MGE, обладающими лекарственной устойчивостью. Одной из стратегических целей в терапии *M. genitalium*-инфекции наряду с достижением комплексного ответа (клиническое излечение и микробиологическая эрадикация) является сдерживание распространения антибиотикорезистентности.

Фторхинолоны – это группа антибактериальных препаратов, целевой мишенью которых являются белки-ферменты, участвующие в репликации ДНК: ДНК-гираза и топоизомераза IV. ДНК-гираза – тетрамерный фермент (состоит из 2 *gyrA*- и 2 *gyrB*-субъединиц), обеспечивающий продвижение репликационной вилки за счет устранения суперскученности цепей ДНК. Топоизомераза IV (состоит из 2 *parC*- и 2 *parE*-субъединиц) – фермент, участвующий в расхождении дочерних хромосом [10].

Таким образом, механизм действия фторхинолонов оказывает бактериостатический эффект посредством остановки репликации ДНК и бактерицидный – за счет образования и накопления двойных разрывов ее цепи [11].

В эрадикационных схемах зарубежных руководств, посвященных MGE, экспертами предложен моксифлоксацин – антибактериальный препарат группы фторхинолонов IV поколения, оказывающий сопряженную ингибирующую активность в отношении ДНК-гиразы и топоизомеразы IV [12].

Согласно Европейскому руководству по ведению инфекций, вызванных *Mycoplasma genitalium*, 2021 г., препараты группы фторхинолонов относятся ко второй линии терапии, назначаемой в случае неудач терапии азитромицином либо при выявлении генетических детерминант резистентности к макролидам у MGE [8]. Специалистами Центра по контролю и профилактике заболеваний США в Руководстве по лечению заболеваний, передаваемых половым путем, 2021 г. также предлагается применение тестирования по выявлению чувствительности *M. genitalium* к макролидам, по итогам которого определяется тактика назначения стартовой группы антибактериальных препаратов. В случае отсутствия доступности такого вида тестирования, врачам-специалистам рекомендовано начинать терапию *M. genitalium*-инфекции с фторхинолонов в комбинации с доксициклином [9].

К настоящему времени в международных публикациях показано, что в основе резистентности к фторхинолонам лежат генетические механизмы. Возникновение однонуклеотидных замен SNP (Single Nucleotide Polymorphism) в определенных участках генов *gyrA*, *gyrB*, *parC* и *parE* QRDR (англ. Quinolone Resistance Determining Region) влечет за собой образование аминокислотных замен, обуславливающих формирование устойчивости возбудителя к действию антибактериальных препаратов группы фторхинолонов [3, 13, 14].

Согласно последним данным метаанализа 2020 г. (Machalek D.A. et al.), общая распространенность мутаций, связанных с устойчивостью к фторхинолонам



у *M. genitalium*, составила 7,7% (95% ДИ 4,5–11,4%) [15]. Авторами отмечено, что за анализируемый период времени распространенность уровня резистентности существенно не изменилась. Сравнительный анализ межрегиональных показателей выявил значительное ее превышение в странах западной части Тихого океана по отношению к европейскому региону [15].

В Республике Беларусь алгоритм терапии пациентов с *M. genitalium*-инфекцией определяется Клиническим протоколом диагностики и лечения пациентов с инфекциями, передаваемыми половым путем, от 29.10.2009 № 1020, в котором предусмотрено применение 2 групп антибактериальных препаратов: тетрациклинового ряда и макролидов [16].

Несмотря на данный факт, ввиду схожести клинической картины микоплазмоза с другими заболеваниями урогенитального тракта, не исключена возможность назначения фторхинолонов в качестве эмпирической терапии в практике врачей – специалистов урологического и гинекологического профиля [17, 18].

Таким образом, низкий уровень осведомленности о проблеме антибиотикорезистентности у MGE, терапия без учета этиологического фактора ИППП (инфекции, передаваемые половым путем), а также игнорирование тестирования контроля излечения могут приводить к формированию и распространению устойчивых штаммов. Экспертами ВОЗ в целях предотвращения распространения лекарственной устойчивости при инфекциях, передаваемых половым путем, рекомендовано проводить мониторинг резистентности к противомикробным препаратам, а данные, полученные в ходе таких исследований, должны использоваться для регулярного обновления национальных руководств [19, 20].

Согласно последним данным, уровень резистентности к фторхинолонам *M. genitalium* у пациентов Республики Беларусь составил 5,88% среди женского населения за 2013 г. [21]. С учетом новых реалий в проблеме устойчивости к антибактериальным препаратам у *M. genitalium* изучение уровня и спектра маркеров резистентности к фторхинолонам в белорусской популяции приобретает несомненную актуальность.

Данное исследование осуществлено в рамках совместного научно-исследовательского сотрудничества в сфере медицинской науки между учреждением образования «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (СГМУ) и государственным учреждением «Республиканский клинический медицинский центр» Управления делами Президента Республики Беларусь (ГУ «РКМЦ»). Все результаты тестирования включены в открытый проект DeMaRes (Detection of Macrolide Resistance – *Mycoplasma genitalium*) «Анализ распространенности мутаций резистентности к макролидам и фторхинолонам у *Mycoplasma genitalium*» и размещены на платформе AMRcloud в России (<https://amrcloud.net/ru/project/demares/>).

## ■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить распространенность и спектр маркеров резистентности к фторхинолонам у *Mycoplasma genitalium*, выделенной от пациентов 3 областных центров (Брест, Витебск, Минск) Республики Беларусь, обратившихся за медицинской помощью в лечебно-профилактические учреждения за период с марта 2022 по март 2024 г.

## ■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование устойчивости к фторхинолонам было выполнено на образцах *M. genitalium*, собранных за период с марта 2022 по март 2024 г. Коллекция из 322 положительных образцов клинических изолятов *M. genitalium* представлена из централизованных лабораторий 3 областных центров Республики Беларусь: УЗ «Минский городской клинический центр дерматовенерологии» и ГУ «Республиканский клинический медицинский центр» Управления делами Президента Республики Беларусь (n=199), УЗ «Брестский областной кожно-венерологический диспансер» (n=90), УЗ «Витебский областной клинический центр дерматовенерологии и косметологии» (n=33). Биологический материал, представленный соскобами со слизистых оболочек уретры и цервикального канала, был получен от пациентов, обратившихся за медико-консультативной помощью к специалистам: дерматовенерологам, гинекологам и урологам специализированных и многопрофильных медицинских учреждений областных и районных центров.

В лабораториях указанных учреждений здравоохранения клинический образец был классифицирован как положительный на основании первичного рутинного тестирования с использованием наборов, зарегистрированных на территории Республики Беларусь.

Для выделения ДНК *M. genitalium* использовали наборы реагентов «ДНК-сорб-АМ» («АмплиСенс» ФБУН ЦНИИ, Россия), «Проба-НК-Плюс и Проба-Рapid» («ДНК-технология», Россия), «РеалБест экстракция 100» (АО «Вектор-Бест», Россия).

Выявление ДНК *M. genitalium* осуществляли на основе технологии ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени (ПЦР-РВ), для чего применялись наборы реагентов «ПЛАЗМОГЕН-Mg. *Mycoplasma genitalium*» («ДНК-технология», Россия), «РеалБест ДНК *Chlamydia trachomatis* / *Mycoplasma genitalium*» (АО «Вектор-Бест», Россия) и «АМПЛИСЕНС® *C. trachomatis* / *Ureplasma spp.* / *M. genitalium* / *M. Hominis*-Мультипрайм-FL» (ФБУН ЦНИИ, Россия) в моноплексном и мультиплексном формате, предназначенные для обследования пациентов на *M. genitalium*, а также для исследования микрофлоры урогенитального тракта у женщин и мужчин (Фемофлор®16, Фемофлор®8, Фемофлор® Скрин, Андрофлор®, Андрофлор® Скрин («ДНК-технология», Россия)). Использовались регистрирующие амплификаторы ДТ-96 и ДТ-lite («ДНК-технология», Россия), Rotor-Gene Q (QIAGEN, Германия) и CFX96 Touch (Bio-Rad, США).

При обнаружении ДНК *M. genitalium* образцы хранились при температуре -20 °С и передавались в центральную лабораторию молекулярной диагностики (НИИ антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России, Смоленск) для дальнейшего их тестирования на наличие генетических маркеров резистентности к фторхинолонам.

Выявление мутаций фторхинолонрезистентности, вызывающих изменения аминокислот (aa) в областях QRDR *parC* (положения aa 79-84) и *gyrA* (положения aa 83-87), осуществлялось с использованием модифицированного метода ПЦР-РВ с эффектом гашения флуоресценции зонда праймером.

Во всех образцах ДНК *M. genitalium*, несущих мутации, в целях подтверждения характера нуклеотидной замены использовали метод секвенирования по Сэнгеру соответствующих фрагментов гена с использованием наборов BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit и генетического анализатора Applied Biosystems 3500



(Life Technologies, США). Все этапы анализа проводились в соответствии с инструкцией к набору реагентов и оборудованию.

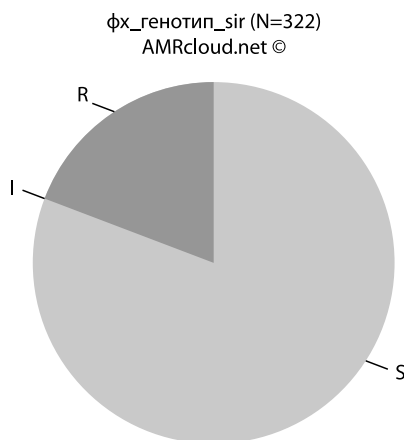
Статистическая обработка и визуализация данных выполнена при помощи инструментов онлайн-платформы для анализа и обмена данными антибиотикорезистентности AMRcloud (<https://amrcloud.net/>), программы MS Office Excel 2013.

## ■ РЕЗУЛЬТАТЫ

За период с марта 2022 по март 2024 г. было получено и проанализировано 322 клинических образца от пациентов из 3 областных центров (Брест, Витебск, Минск) Республики Беларусь. Долевое соотношение в коллекции образцов распределилось следующим образом (в порядке убывания): Минск – 61,8% (199/322), Брест – 27,95% (90/322) и Витебск – 10,25% (33/322).

В структуре биологического материала преобладающая доля принадлежит исследованиям урогенитального тракта женщин – 69% (225/322), а доля исследований урогенитального тракта мужчин составила 31% (97/322). Возрастной диапазон пациентов – от 17 лет до 56 лет. Медиана возраста женщин составила 28 лет (18–56 лет), медиана возраста мужчин – 28 лет (17–54 года). Анализ полученных данных по областям Беларуси не установил значимых возрастных различий среди пациентов, средний возраст составил 30 лет.

В ходе анализа на наличие маркеров резистентности к фторхинолонам было установлено отсутствие мутаций в гене *gyrA* (ДНК-гираза). Все выявленные случаи



**Рис. 1.** Структура выборки всех положительных образцов (N=322) с ДНК *M. genitalium* на наличие маркеров резистентности к фторхинолонам: S – образцы ДНК *M. genitalium* (81,37%), в которых мутации не были выявлены (возбудитель, чувствительный к препаратам группы фторхинолонов); R – образцы ДНК *M. genitalium* (18,63%), в которых были выявлены мутации в гене *parC* (топоизомераза IV), *M. genitalium* (возбудитель, устойчивый к препаратам группы фторхинолонов)

**Fig. 1.** Sample structure of all positive samples (N=322) with *M. genitalium* DNA for markers of resistance to fluoroquinolones: S – *M. genitalium* DNA samples (81.37%) in which no mutations were detected (pathogen sensitive to fluoroquinolone antibiotics); R – *M. genitalium* DNA samples (18.63%) in which mutations were detected in the *parC* gene (topoisomerase IV); *M. genitalium* (pathogen resistant to fluoroquinolones)

мутаций приходились на ген *parC* (топоизомераза IV), что составило 18,63% (60/322) (95% ДИ 14,76–23,25%) образцов, у оставшихся 81,37% (262/322) (95% ДИ 76,75–85,24%) образцов мутации не были выявлены – wild type (рис. 1).

Изучение характера нуклеотидных замен на 60 образцах позволило определить их мутационный профиль, который представлен 7 вариантами аминокислотных замен в гене *parC* топоизомеразы IV (табл. 1).

Как видно из табл. 1, преобладающую позицию в общей структуре выявленных вариантов аминокислотных замен занимает S80I (Ser-80-Ile) – 8,7% случаев. Вторую по значимости позицию занимает вариант D84N (Asp-84-Asn) – 5,9%. Третий по распространенности вариант – S80N (Ser80-Asn) – 2,79%. Остальные варианты представлены в единичных случаях образцов с минимальным одинаковым долевым участием в общей выборке.

Уровень резистентности к фторхинолонам у *M. genitalium* в различных гендерных группах составил: в женской популяции – 20% (45/225), в мужской популяции – 15,46% (15/97) (рис. 2). Количество образцов с выявленными мутациями в женской популяции превышает мужскую в 3 раза.

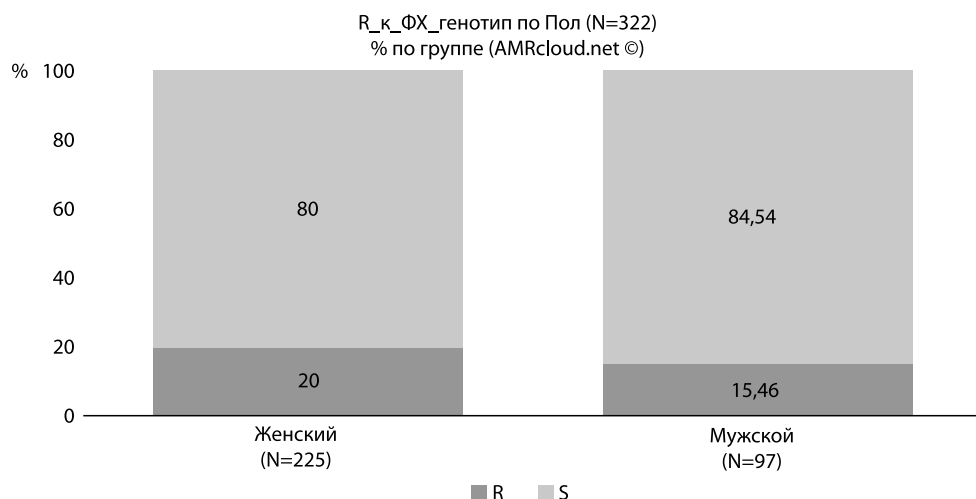
В табл. 2 представлен спектр всех выявленных мутаций в обеих гендерных группах. Женская популяция характеризуется более разнообразным спектром маркеров антибиотикорезистентности к фторхинолонам (7 вариантов) по сравнению с мужской и превышает его в 2 раза. Различий в доминирующих типах замен аминокислот в гене *parC* у *M. genitalium*, выделенной от женщин и мужчин, не выявлено. В обеих группах преобладает один и тот же вариант в позиции *parC* S80I с сопоставимым уровнем распространения (табл. 2).

В ходе исследования была определена распространенность резистентности к фторхинолонам и мутационный профиль у *M. genitalium* по областным городам Беларуси (табл. 3). В Минске распространенность резистентности к фторхинолонам составила 26% (49/199) с доминирующей аминокислотной заменой в гене *parC* в позиции S80I (Ser-80-Ile) (8,89%), в Бресте фторхинолонрезистентность составила 5%

**Таблица 1**  
**Тип и распространенность мутаций к фторхинолонам у *M. genitalium* в Республике Беларусь за период с марта 2022 по март 2024 г.**

**Table 1**  
**Type and prevalence of mutations to fluoroquinolones in *M. genitalium* in the Republic of Belarus for the period from March 2022 to March 2024**

Тип мутаций	Количество образцов	Относительное значение
<b>ДНК-гираза</b>		
GyrA «дикий тип»	322	100%
<b>Топоизомераза IV</b>		
ParC «дикий тип»	262	81,37%
ParC S80I	28	8,7%
ParC D84N	19	5,9%
ParC S80N	9	2,79%
ParC D79N	1	0,31%
ParC D84G	1	0,31%
ParC D84Y	1	0,31%
ParC S80R	1	0,31%



**Рис. 2. Распространенность маркеров резистентности к фторхинолонам у *M. genitalium* в различных гендерных группах (N=322): S – образцы ДНК *M. genitalium*, в которых мутации не были выявлены (возбудитель, чувствительный к препаратам группы фторхинолонов); R – образцы ДНК *M. genitalium*, в которых были выявлены мутации в гене *parC* (топоизомераза IV), *M. genitalium* (возбудитель, устойчивый к препаратам группы фторхинолонов)**  
**Fig. 2. Prevalence of fluoroquinolone resistance markers in *M. genitalium* in various gender groups (N=322): S – *M. genitalium* DNA samples in which no mutations were detected (pathogen sensitive to fluoroquinolone antibiotics); R – *M. genitalium* DNA samples in which mutations were detected in the *parC* gene (topoisomerase IV); *M. genitalium* (pathogen resistant to fluoroquinolone drugs)**

**Таблица 2**  
**Спектр выявленных маркеров резистентности к фторхинолонам у *M. genitalium* в различных гендерных группах (N=322)**  
**Table 2**  
**Spectrum of identified fluoroquinolone resistance markers in *M. genitalium* in various gender groups (N=322)**

Тип мутаций	Количество образцов	Относительное значение	Количество образцов	Относительное значение
	Женский пол (n=225)		Мужской пол (n=97)	
<b>ДНК-гираза</b>				
ГугА «дикий тип»	225	100%	97	100%
<b>Топоизомераза IV</b>				
ParC «дикий тип»	180	80%	82	84,54%
ParC S80I	20	8,89%	8	8,25%
ParC D84N	15	6,67%	4	4,12%
ParC S80N	6	2,66%	3	3,09%
ParC D79N	1	0,44%	–	–
ParC D84G	1	0,44%	–	–
ParC D84Y	1	0,44%	–	–
ParC S80R	1	0,44%	–	–

**Таблица 3**  
**Распространенность устойчивости к фторхинолонам и мутационный профиль у *M. genitalium***  
**по областным городам Республики Беларусь**  
**Table 3**  
**Prevalence of fluoroquinolone resistance and mutation profile in *M. genitalium* in regional cities**  
**of Republic of Belarus**

Город	Общая частота мутаций	Вариант мутации	Распространенность
Брест	5/90 (5%)	ParC S80I ParC D84N	4/90 (4%) 1/90 (1%)
Витебск	6/33 (18%)	ParC S80I ParC D84N ParC S80N	1/33 (3%) 1/33 (3%) 4/33 (12%)
Минск	49/199 (26%)	ParC S80I ParC D84N ParC S80N ParC D79N ParC D84G ParC D84Y ParC S80R	23/199 (12%) 17/199 (9%) 5/199 (3%) 1/199 (0,5%) 1/199 (0,5%) 1/199 (0,5%) 1/199 (0,5%)

(5/90) с доминирующей аминокислотной заменой в гене *parC* в позиции S80I (Ser-80-Ile) (4%), в Витебске – 18% (6/33) с доминирующей аминокислотной заменой в гене *parC* в позиции S80N (12%).

Анализ полученных сведений о распространенности маркеров резистентности к фторхинолонам по областям Республики Беларусь в различных гендерных группах выявил, что в Бресте все положительные случаи мутаций в QRDR были определены в женской популяции – 5% (5/90). В Витебске 6% (2/33) пришлось на мужскую популяцию с единственным вариантом аминокислотных замен в *parC* S80N (Ser80-Asn) и 12% (4/33) – на женскую с аналогичным доминирующим вариантом. В Минске 7% (13/199) случаев пришлось на мужскую популяцию и 18% (36/199) – на женскую с одинаковым доминирующим вариантом аминокислотных замен в *parC* S80I (Ser-80-Ile).

Сравнительный анализ межобластных показателей позволил установить, что город Минск занимает доминирующую позицию по уровню резистентности к фторхинолонам у *M. genitalium* среди других областных центров и превышает среднереспубликанское его значение в 1,4 раза. В Бресте и Минске преобладает одинаковый вариант аминокислотной замены в гене *ParC* в позиции S80I (Ser-80-Ile). В Витебске доминирующую позицию занимает вариант S80N (Ser80-Asn).

## ■ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что возрастная категория исследованной выборки пациентов распределилась в пределах 17–56 лет с медианой 28 лет. Данный показатель отражает, что MGE выявляется в популяции населения с благоприятными репродуктивными возможностями и сексуальной активностью. Доминирующую позицию в выборке занимают образцы, полученные от женщин, – 69%. Гендерный перевес в сторону женской популяции объясняется особенностями диагностических алгоритмов в акушерско-гинекологической практике, включающих обширный спектр показаний для обследования на ИППП, а также обязательный скрининг беременных на *M. genitalium* при постановке на учет [17]. Мужская популяция представлена в меньшинстве –



31% ввиду того, что мужчины как пациенты обращаются за медицинской помощью в учреждения здравоохранения только лишь в случае выраженных клинических проявлений со стороны урогенитального тракта.

Последние актуальные эпидемиологические данные, отражающие уровень резистентности к фторхинолонам у *M. genitalium*, отсутствуют. Этому предшествует ряд взаимосвязанных причин, в том числе низкий уровень научной публикационной активности, побуждающий интерес к проблеме резистентности MGE (последние данные опубликованы в 2013 г. – 5,88%) [21], отсутствие описанных клинических случаев неудач в терапии микоплазменной инфекции, отсутствие регламентированного применения в рутинной лабораторной практике коммерческих тест-систем по диагностике маркеров резистентности к фторхинолонам.

К настоящему времени уровень фторхинолонрезистентности у *M. genitalium* по Республике Беларусь составляет 18,63%. Таким образом, по сравнению с результатами 2013 г. (5,88%) [21] он вырос в 3 раза. Сопоставляя полученные данные с последними данными метаанализа 2020 г. (Machalek D.A. et al.) [15], следует отметить превышение показателя (7,7%) в 2,4 раза. Распространенность маркеров резистентности к фторхинолонам по странам регионов ВОЗ распределена неравномерно. Данные по Республике Беларусь превышают показатели по таким странам, как Скандинавия (Дания, Норвегия и Швеция) – 6,6% (4,1–10,2%) [3], Англия – 3,3% [22], Испания – 8% [23], Германия – 13% [24], США – 11,5% [25], Австралия – 15% [26]. Они сопоставимы с данными таких стран, как Италия – 21,3% [27], Россия (Санкт-Петербург и Москва) – 25 и 21% [28], но значительно уступают странам региона западной части Тихого океана: Япония – 53,1% [29], Китай – 53% [30] и Сингапур – 37,5% [31].

Установлено, что причиной устойчивости к фторхинолонам у MGE являются аминокислотные замены в QRDR-области формирования устойчивости возбудителя к действию антибактериальных препаратов данной группы. Наиболее частыми вариантами в белорусской популяции были S80I (Ser-80-Ile) и D84N (Asp-84-Asn) в гене *parC*. Преобладание данного спектра маркеров отмечено в Минске и Бресте. В Витебске доминирующую позицию занимает вариант S80N (Ser80-Asn), который, в свою очередь, является третьим по распространенности в общей выборке по стране. Сопоставимый профиль генетических маркеров резистентности к фторхинолонам был отмечен в соседней с нами стране – России (Санкт-Петербург и Москва). Ввиду того, что до сегодняшнего момента профиль генетических детерминант резистентности к фторхинолонам у MGE в Республике Беларусь не был установлен, нельзя исключить вероятность распространения резистентных штаммов из соседнего государства. Этому способствуют единое таможенное пространство, развитая трудовая миграция и туристические направления.

Согласно зарубежным данным, мутации, затрагивающие серин в положении 83 (например, S83I, S83R) и аспарагиновую кислоту в положении 87 (например, D87N, D87Y), в гене *parC* являются одними из самых распространенных вариантов с подтвержденной клинической значимостью [29, 32, 33]. Случаи выявления MGE с подобным мутационным профилем сопровождаются фенотипической резистентностью к препаратам фторхинолонового ряда, приводя к случаям неудачи в терапии [34].

Причины роста и распространения устойчивых к фторхинолонам *M. genitalium* связаны с устройством генетического аппарата микроорганизма и особенностями проведения диагностики и терапии возбудителя. Основная мишень действия

фторхинолонов у микоплазм – топоизомераза IV. Причиной образования и накопления мутаций в этой области является утрата 3'-5' экзонуклеазной активности их ДНК-полимеразы [35].

В Республике Беларусь терапия *M. genitalium*-инфекции регулируется Клиническим протоколом диагностики и лечения пациентов с инфекциями, передаваемыми половым путем, и ограничивается применением антибактериальных препаратов 2 групп (тетрациклины и макролиды). Рутинное тестирование на выявление генетических детерминант резистентности не регламентировано и не проводится. По этой причине отсутствуют данные, позволяющие установить причинно-следственные связи между генетическим профилем и фенотипической резистентностью микроорганизма, приводящей к неудачам в терапии. Следствием этого является низкий уровень осведомленности о проблеме резистентности у MGE среди врачей-специалистов и пациентов.

Эмпирическое назначение фторхинолонов происходит на фоне отсутствия своевременной лабораторной диагностики ИППП при дифференциальной диагностике заболеваний урогенитального тракта. Подтверждением этому является широкое применение фторхинолонов в урологической и гинекологической практике. Чаще всего это препараты II поколения – офлоксацин, цiproфлоксацин, норфлоксацин и III поколения – левофлоксацин с низкой или неподтвержденной эффективностью в отношении *M. genitalium* [17, 18]. Для фторхинолонов II, III поколения первичной мишенью является ген *parC* (топоизомераза IV), что способствует быстрому развитию устойчивости и селекции изолятов MGE [36, 37].

## ■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выявленный уровень резистентности к фторхинолонам у *M. genitalium* демонстрирует актуальность затронутой проблемы для Республики Беларусь. Проведение мониторинга резистентности к противомикробным препаратам и данные, полученные в ходе таких исследований, должны использоваться для регулярного обновления национальных руководств.

---

## ■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Taylor-Robinson D, Jensen JS. *Mycoplasma genitalium*: From Chrysalis to multicolored butterfly. *Clin Microbiol Rev.* 2011;24(3):498. doi: 10.1128/cmr.00006-11
2. Lis R, Rowhani-Rahbar A, Manhart LE. *Mycoplasma genitalium* Infection and female reproductive tract disease: A Meta-analysis. *Clin Infect Dis.* 2015;61(3):418–426. doi: 10.1093/cid/civ312
3. Potekaev NN, Kisina VI, Romanova IV, Guschin AE, Polevshchikova SA. Current status of *Mycoplasma genitalium* infection. *Russian Journal of Clinical Dermatology and Venereology.* 2018;17(3):12–21. doi: 10.17116/klinderma201817312. (in Russian)
4. De Baetselier I, Kenyon C, Vanden Berghe W, Smet H, Wouters K, Van den Bossche D, et al. An alarming high prevalence of resistance-associated mutations to macrolides and fluoroquinolones in *Mycoplasma genitalium* in Belgium: results from samples collected between 2015 and 2018. *Sex Transm Infect.* 2020;sextrans-2020-054511. doi: 10.1136/sextrans-2020-054511
5. Hokynar K, Hiltunen-Back E, Mannonen L, Puolakkainen M. Prevalence of *Mycoplasma genitalium* and mutations associated with macrolide and fluoroquinolone resistance in Finland. *Int J STD AIDS.* 2018;29(9):904–907. doi: 10.1177/0956462418764482
6. Tagg KA, Jeffreys NJ, Couldwell DL, Donald JA, Gilbert GL. Fluoroquinolone and macrolide resistance-associated mutations in *Mycoplasma genitalium*. *J Clin Microbiol.* 2013;51(7):2245–2249. doi: 10.1128/JCM.00495-13
7. Global Health Sector Strategies on, respectively, HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections for the period 2022–2030 (GHSS) July, 2022. ISBN: 978-92-4-005377-8 Available at: <https://www.who.int/ru/publications/i/item/9789240053779>.
8. Jensen J.S., et al. 2021 European guideline on the management of *Mycoplasma genitalium* infections. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2022 May;36(5):641–650. doi: 10.1111/jdv.17972
9. Kimberly A. Workowski, M.D., Laura H. Bachmann, M.D., Philip A. Chan, M.D., Christine M., et al. *Sexually Transmitted Infections Treatment Guidelines.* 2021 July 23;70(4):1–187.



10. Feio M.J., Sousa I., Ferreira M., Cunha-Silva L., Saraiva R.G., Queirós C., Alexandre J.G., Claro V., Mendes A., Ortiz R., Lopes S., Amaral A.L., Lino J., Fernandes P., Silva A.J., Moutinho L., De Castro B., Pereira E., Perelló L., Gameiro P. Fluoroquinolone metal complexes: a route to counteract bacterial resistance? *J. Inorg. Biochem.* 2014;138:129–143. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2014.05.007
11. Hooper D.C. Mechanisms of fluoroquinolone resistance. *Drug Resist. Updat.* 1999;2(1):238–255. doi: 10.1054/drup.1998.0068
12. King D.E., Malone R., Lilley S.H. New classification and update on the quinolone antibiotics. *Am. Fam. Physician.* 2000;61(9):2741–2748.
13. Hamasuna R., Le P.T., Kutsuna S., Furubayashi K., Matsumoto M., Ohmagari N., et al. Mutations in ParC and GyrA of moxifloxacin-resistant and susceptible *Mycoplasma genitalium* strains. *PLoS One.* 2018;13(6):e0198355. doi: 10.1371/journal.pone.0198355
14. Murray G.L., Bodiyaabadu K., Danielewski J., et al. Moxifloxacin and Sitaflaxacin Treatment Failure in *Mycoplasma genitalium* Infection: Association with parC Mutation G248T (S83I) and Concurrent gyrA Mutations. *J Infect Dis.* 2020;221(6):1017. doi: 10.1093/infdis/jiz2550
15. Machalek D.A., Tao Y., Shilling H., Jensen J.S., Unemo M., Murray G., Chow E.P.F., Low N., Garland S.M., Vodstrcil L.A., Fairley C.K., Hocking J.S., Zhang L., Bradshaw C.S. Prevalence of mutations associated with re-sistance to macrolides and fluoroquinolones in *Mycoplasma genitalium*: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* 2020 Nov;20(11):1302–1314. Epub 2020 Jul 2. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30154-7
16. Clinical protocol for diagnosis and treatment of patients with sexually transmitted infections (approved by the order of the Ministry of Health of the Republic of Belarus dated 10.29.2009 No. 1020). Available at: <https://minzdrav.gov.by/ru/dlya-spetsialistov/standarty-obsledovaniya-i-lecheniya/dermatovenerologiya.php> (accessed July 5, 2025). (in Russian)
17. Medical observation and provision of medical care to women in obstetrics and gynecology: Clinical protocol (approved by the Resolution of the Ministry of Health of the Republic of Belarus dated 19.02.2018 No. 17). Available at: <https://minzdrav.gov.by/ru/dlya-spetsialistov/standarty-obsledovaniya-i-lecheniya/akusherstvo-ginekologiya.php> (accessed July 5, 2025). (in Russian)
18. Clinical protocol for diagnostics and treatment of patients (adult population) with urological diseases when providing medical care in outpatient and inpatient settings of district, regional and republican healthcare organizations of the Republic of Belarus (approved by order of the Ministry of Health of the Republic of Belarus dated 22.09.2011 No. 920). Available at: <https://minzdrav.gov.by/ru/dlya-spetsialistov/standarty-obsledovaniya-i-lecheniya/urologiya.php> (accessed July 5, 2025). (in Russian)
19. Global Health Sector Strategies on, respectively, HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections for the period 2022–2030 (GHSS) July, 2020. ISBN: 978-92-4-005377-8 Available at: <https://www.who.int/ru/publications/i/item/9789240053779>.
20. WHO bacterial priority pathogens list, 2024: Bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance ISBN 978-92-4-009346-1 Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240093461>.
21. Kostiuk S.A., Rudenkova T.V., Badigina N.A., Poluyan O.S. Detecting of genetic markers of resistance to antibacterial medicines in *Mycoplasma genitalium* clinical isolates. *Medical Journal.* 2013;4(7):76–79. (in Russian)
22. Pitt R., Unemo M., Sonnenberg P., Alexander S., Beddows S., Cole M.J., Clifton S., Mercer C.H., Johnson A.M., Ison C.A., Field N., Antimicrobial resistance in *Mycoplasma genitalium* sampled from the British general population. *Sex Transm Infect.* 2020 Sep;96(6):464–468. Epub 2020 Jan 10. doi: 10.1136/sextrans-2019-054129
23. Barberá MJ, Fernández-Huerta M, Jensen JS, Caballero E, Andreu A. *Mycoplasma genitalium* Macrolide and Fluoro-quinolone Resistance: Prevalence and Risk Factors Among a 2013–2014 Cohort of Patients in Barcelona. *Spain Sex Transm Dis.* 2017 Aug;44(8):457–462. doi: 10.1097/OLQ.0000000000000631
24. Dumke R., Ziegler T., Abbasi-Boroudjeni N., Rust M., Glaunsinger T. Prevalence of macrolide- and fluoroquinolone-resistant *Mycoplasma genitalium* strains in clinical specimens from men who have sex with men of two sexually transmitted infection practices in Berlin, Germany. *J Glob Antimicrob Resist.* 2019 Sep;18:118–121. Epub 2019 Jun 25. doi: 10.1016/j.jgar.2019.06.015
25. Bachmann L.H., Kirkcaldy R.D., Geisler W.M., et al. Prevalence of *Mycoplasma genitalium* infection, antimicrobial resistance mutations and symptom resolution following treatment of urethritis. *Clin Infect Dis.* 2020;71:e624–32. doi: 10.1093/cid/ciaa293
26. Couldwell D.L., Tagg K.A., Jeffreys N.J., Gilbert G.L. Failure of moxifloxacin treatment in *Mycoplasma genitalium* infections due to macrolide and fluoroquinolone resistance. *Int J STD AIDS.* 2013 Oct;24(10):822–8. Epub 2013 Aug 29. doi: 10.1177/0956462413502008
27. Sandri A., Carelli M., Visentin A., Savoldi A., De Grandi G., Mirandola M., Lleo M.M., Signoretto C., Cordoli M. *Mycoplasma genitalium* antibiotic resistance-associated mutations in genital and extragenital samples from men-who-have-sex-with-men attending a STI clinic in Verona, Italy. *Front Cell Infect Microbiol.* 2023 Mar 31;13:1155451. doi: 10.3389/fcimb.2023.1155451.eCollection2023
28. Edelstein I.A., Gushchin A.E., Gladin D.P., Romanov A.V., Negasheva E.S., Frigo N.V., Kozlov R.S., Potekaev N.N., Kozlova N.S., Borukhovich D.G. High prevalence of resistance to macrolides and fluoroquinolones in *Mycoplasma genitalium* isolated from patients in two Russian megalopolises – Moscow and St. Petersburg in 2021–2024. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy.* 2024; 26(3):356–369. doi: 10.36488/cmacc.2024.3.356-369
29. Hamasuna R., Le P.T., Kutsuna S., Furubayashi K., Matsumoto M., Ohmagari N., et al. Mutations in ParC and GyrA of moxifloxacin-resistant and susceptible *Mycoplasma genitalium* strains. *PLoS One.* 2018;13(6):e0198355. doi: 10.1371/journal.pone.0198355
30. Lee S.S., Cheng K.F., Wong N.S., Kwan C.K., Lau O.C., Cheng H.F., Ngan W., Ma S.P., Kam K.M., Ho K.M., Chung P.H., Chan D.P.C. Emergence of antibiotic-resistant *Mycoplasma genitalium* as the cause of non-gonococcal urethritis in male patients at a sexually transmitted infection clinic. *Int J Antimicrob Agents.* 2022 Feb;59(2):106510. Epub 2021 Dec 28. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2021.106510
31. Hart T., Tang W.Y., Mansoor S.A.B., Chio M.T.W., Barkham T. *Mycoplasma genitalium* in Singapore is associated with Chlamydia trachomatis infection and displays high macrolide and Fluoroquinolone resistance rates. *BMC Infect Dis.* 2020 Apr 28;20(1):314. doi: 10.1186/s12879-020-05019-1
32. Naokatsu Ando, Daisuke Mizushima, et al. High prevalence of circulating dual-class resistant *Mycoplasma genitalium* in asymptomatic MSM in Tokyo, Japan. *JAC Antimicrob Resist.* 2021;3(2):dlab091. doi: 10.1093/jacamr/dlab091
33. Dumke R., Spornraft-Ragaller P. Antibiotic Resistance and Genotypes of *Mycoplasma genitalium* during a Resistance-Guided Treatment Regime in a German University Hospital. *Antibiotics.* 2021;10(8):962. doi: 10.3390/antibiotics10080962
34. Bodiyaabadu K., Danielewski J., Garland S.M., Machalek D.A., Bradshaw C.S., Birnie J., et al. Detection of ParC gene mutations associated with quinolone resistance in *Mycoplasma genitalium*: evaluation of a multiplex real-time PCR assay. *J Med Microbiol.* 2021;70(3):001257. doi: 10.1099/jmm.0.001257
35. Bebear C.M., Bové J.M., Bebear C., Renaudin J. Characterization of *Mycoplasma hominis* mutations involved in resistance to fluoroquinolones. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1997;41(2):269–273.
36. Hooper D.C., Jacoby G.A. Mechanisms of drug resistance: quinolone resistance. *Ann NY Acad Sci.* 2015;1354(1):12–31. doi: 10.1111/nyas.12830
37. Redgrave L.S., Sutton S.B., Webber M.A., Pidcock L.J.V. Fluoroquinolone resistance: mechanisms, impact on bacteria, and role in evolutionary success. *Trends Microbiol.* 2014;22(8):438–445. doi: 10.1016/j.tim.2014.04.007



Новак А.И.✉, Канина И.В., Назарян А.Р., Зубцова Ю.В., Зайцев М.В.  
Рязанский государственный медицинский университет  
имени академика И.П. Павлова, Рязань, Россия

## Стратегия преодоления устойчивости *Staphylococcus aureus* к антибактериальным средствам на основе использования феномена фагоантибиотической синергии

**Конфликт интересов:** не заявлен.

**Вклад авторов:** концепция и дизайн исследования, редактирование, обработка, написание текста – Новак А.И., Канина И.В.; сбор материала, написание текста – Назарян А.Р., Зубцова Ю.В., Зайцев М.В.

Подана: 20.01.2026

Принята: 22.04.2026

Контакты: marieta69@mail.ru

### Резюме

**Введение.** Повышению чувствительности резистентных штаммов *Staphylococcus aureus* к антимикробным средствам способствует синергия фагов и антибиотиков (PAS-эффект).

**Цель.** Изучить влияние стафилококкового бактериофага на повышение чувствительности *S. aureus* к антибиотикам.

**Материалы и методы.** На желточно-солевом агаре выделяли *S. aureus* у контингента студентов-медиков (163 человека), определяли чувствительность бактерий к антибиотикам диско-диффузионным методом на агаре Мюллера – Хинтона, а к фагам – методом спот-теста на мясо-пептонном агаре. Изучали феномен синергии фагов и антибиотиков (Phage-Antibiotic Synergy, PAS) с использованием взвеси *S. aureus* в концентрации  $10^9$  КОЕ, определявшейся по стандарту мутности MacFarland на денситометре DEN-1 Biosan, и бактериофага в концентрации  $10^8$  БОЕ (методом Грациа).

**Результаты.** Из полости носа и зева у  $69,9 \pm 5,5\%$  (114 из 163) человек выделен *S. aureus*. Интенсивность колонизации слизистых оболочек варьировала от 6–11 до 350–700 КОЕ на тампон. Клинические изоляты *S. aureus* проявили резистентность к азитромицину в  $95,7 \pm 3,9\%$  случаев, гентамицину – в  $59,1 \pm 6,1\%$ , тетрациклину – в  $64,5 \pm 6,7\%$ , амоксиклаву – в  $61,3 \pm 6,4\%$ , цефотаксиму – в  $57,0 \pm 5,9\%$ , стафилококковому фагу – в  $17,2 \pm 1,8\%$  случаев. У 27 из 114 носителей *S. aureus* ( $23,7 \pm 2,2\%$ ) выявлены полирезистентные к антибиотикам штаммы, у 6 из 27 человек изоляты проявили устойчивость и к бактериофагу. После совместного культивирования *S. aureus* с фагом число устойчивых к азитромицину изолятов сократилось до  $73,1 \pm 7,6\%$ , гентамицину – до  $37,6 \pm 3,9\%$ , тетрациклину – до  $40,9 \pm 4,2\%$ . Количество устойчивых к амоксиклаву и цефотаксиму штаммов практически не изменилось, составив  $60,2 \pm 6,2\%$  и  $58,1 \pm 6,0\%$  случаев соответственно. Устойчивые к фагам штаммы сохранили резистентность к антибиотикам.



**Заключение.** Сравнительная оценка резистентности штаммов *S. aureus*, выделенных у носителей, в отношении антибиотиков показала статистически значимое ( $p=0,015$ ) увеличение количества чувствительных к азитромицину, гентамицину и тетрациклину изолятов микроорганизмов после взаимодействия со стафилококковым бактериофагом.

**Ключевые слова:** носительство *S. aureus*, чувствительность к антибиотикам, стафилококковый бактериофаг, полирезистентные штаммы, PAS-феномен

Novak A.✉, Kanina I., Nazaryan A., Zubtsova Yu., Zaitsev M.

Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov, Ryazan, Russia

## A Strategy for Overcoming Staphylococcus Aureus Resistance to Antibacterial Agents Based on the Phenomenon of Phage-Antibiotic Synergy

**Conflict of interest:** nothing to declare.

**Authors' contribution:** research concept and design, editing, material collecting, processing, text writing – Novak A., Kanina I.; material collecting, processing, text writing – Nazaryan A., Zubtsova Yu., Zaitsev M.

Submitted: 20.01.2026

Accepted: 22.04.2026

Contacts: marieta69@mail.ru

### Abstract

**Introduction.** The synergy between phages and antibiotics contributes to an increased sensitivity of resistant strains of *Staphylococcus aureus* to antimicrobial agents (PAS effect).

**Purpose.** To investigate the effect of staphylococcal bacteriophage on increasing the sensitivity of *S. aureus* to antibiotics.

**Materials and methods.** *S. aureus* was isolated from medical students ( $n=163$ ) on yolk-salt agar; the sensitivity of bacteria to antibiotics was determined by the disco-diffusion method on Muller-Hinton agar and that to phages by the spot test method on meat-peptone agar. The phenomenon of synergy of phages and antibiotics (Phage-Antibiotic Synergy, PAS) was investigated using *S. aureus* suspension in concentration of 109 CFU according to the MacFarland turbidity standard (determination using a DEN-1 Biosan densitometer), and bacteriophage suspension in concentration of 108 BOE (Grazia method).

**Results.** *S. aureus* was isolated from the nasal cavity and pharynx in  $69.9\pm 5.5\%$  (114 of 163) subjects. The intensity of colonization of the mucous membranes varied from 6–11 to 350–700 CFU per tampon. Clinical isolates of *S. aureus* showed resistance against azithromycin in  $95.7\pm 3.9\%$  of cases, against gentamicin in  $59.1\pm 6.1\%$ , against tetracycline in  $64.5\pm 6.7\%$ , against amoxiclav in  $61.3\pm 6.4\%$ , against cefotaxime in  $57.0\pm 5.9\%$ , and against staphylococcal phage in  $17.2\pm 1.8\%$ . In 27 of 114 *S. aureus* carriers ( $23.7\pm 2.2\%$ ), antibiotic-resistant strains were identified, and isolates showed resistance against bacteriophage in 6 of 27 subjects. After co-cultivation of *S. aureus* with phage, the number of azithromycin-resistant isolates decreased to  $73.1\pm 7.6\%$ , those of gentamicin-resistant to  $37.6\pm 3.9\%$ ,

and those of tetracycline-resistant to  $40.9 \pm 4.2\%$ . The number of strains resistant against amoxiclav and cefotaxime remained virtually unchanged:  $60.2 \pm 6.2\%$  and  $58.1 \pm 6.0\%$ , respectively. Phage-resistant strains remained resistant against antibiotics.

**Conclusion.** A comparative assessment of antibiotic resistance among *S. aureus* strains isolated from carriers revealed a statistically significant ( $p=0.015$ ) increase in the number of isolates sensitive to azithromycin, gentamicin, and tetracycline following interaction with staphylococcal bacteriophage.

**Keywords:** *S. aureus* carrier, antibiotic sensitivity, staphylococcal bacteriophage, polyresistant strains, PAS phenomenon

---

## ■ ВВЕДЕНИЕ

Проблема устойчивости клинических изолятов *Staphylococcus aureus* к антибактериальным средствам является одной из наиболее актуальных для современной медицины. Резистентные штаммы широко распространены в условиях медицинских учреждений среди врачей, медицинского персонала и пациентов, выявляются в помещениях разного класса чистоты [1].

Для преодоления резистентности стафилококков разрабатываются новые поколения антибиотиков, но этот подход не решает проблему, а лишь расширяет спектр устойчивости бактерий.

Альтернативой антибиотикотерапии является применение специфических фагов. Однако и в отношении бактериофагов стафилококки также вырабатывают различные механизмы устойчивости [2, 3].

Способом повышения чувствительности резистентных бактерий к антимикробным средствам является синергия фагов и антибиотиков (PAS-эффект). При сочетании их применении усиливается бактерицидное действие препаратов и тем самым обеспечивается наилучший результат этиотропной терапии [4–7].

## ■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить влияние стафилококкового бактериофага на повышение чувствительности *S. aureus* к антибиотикам.

## ■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены в 2020–2025 гг. на базе кафедры микробиологии ФГБОУ ВО РязГМУ Министерства здравоохранения России совместно с испытательным лабораторным центром ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Рязанской области». Материал отбирали тампоном из полости зева и носа у клинически здоровых 163 студентов-добровольцев, подписавших информированное согласие; проведение исследований одобрено локальным этическим комитетом (протокол № 2 от 07.10.2020).

Первичный посев проводили на желточно-солевом агаре. По лецитиназной активности выделяли колонии *S. aureus*, определяли их чувствительность к антибиотикам диско-диффузионным методом на агаре Мюллера – Хинтона, к бактериофагам – методом спот-теста на МПА. Изучали феномен синергии фагов и антибиотиков (Phage-Antibiotic Synergy, PAS).



Для определения чувствительности к антибиотикам были использованы диски с разными препаратами антибиотиков, в числе которых: азитромицин (15 мкг), гентамицин (10 мкг), тетрациклин (30 мкг), амоксилав (амоксициллин 20 мкг + клавулановая кислота 10 мкг), цефотаксим (30 мкг) (НИЦФ, г. Санкт-Петербург).

При проведении спот-теста на поверхность ГРМ агара «газоном» инокулировали суточную бульонную культуру *S. aureus*, наносили точечно 20 мкл стафилококкового бактериофага (ФГУП НПО «Микроген», г. Уфа).

При изучении PAS-феномена использовали взвесь *S. aureus* в концентрации  $10^9$  КОЕ по стандарту мутности MacFarland (определение при помощи денситометра DEN-1 Biosan) и бактериофаг в концентрации  $10^8$  БОЕ (определяли методом Грациа в ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Рязанской области»).

Статистический анализ результатов выполняли с использованием программы Microsoft Office Excel 7.0 и интернет-ресурса <http://medstatistic.ru>. Для сравнения зависимых переменных применяли парный *t*-критерий Стьюдента. Статистическая достоверность гипотезы принималась при уровне значимости  $p < 0,05$ .

## ■ РЕЗУЛЬТАТЫ

При посеве клинического материала из полости носа и зева на желточно-солевой агар *S. aureus* выделен у  $69,9 \pm 5,5\%$  (114 из 163) добровольцев. Интенсивность колонизации слизистых оболочек варьировала от 6–11 до 350–700 КОЕ на тампон.

При сборе анамнеза установлены факторы, способствующие носительству *S. aureus* у клинически здоровых студентов: постоянный контакт с людьми, бессистемно принимающими антибиотики; хронический гайморит, тонзиллит в периоде ремиссии с регулярной антибиотикотерапией при обострении заболевания; аллергический ринит на фоне применения глюкокортикостероидов, пониженный иммунный статус (по результатам многолетних исследований), атопический дерматит, акне; в анамнезе тонзиллэктомия.

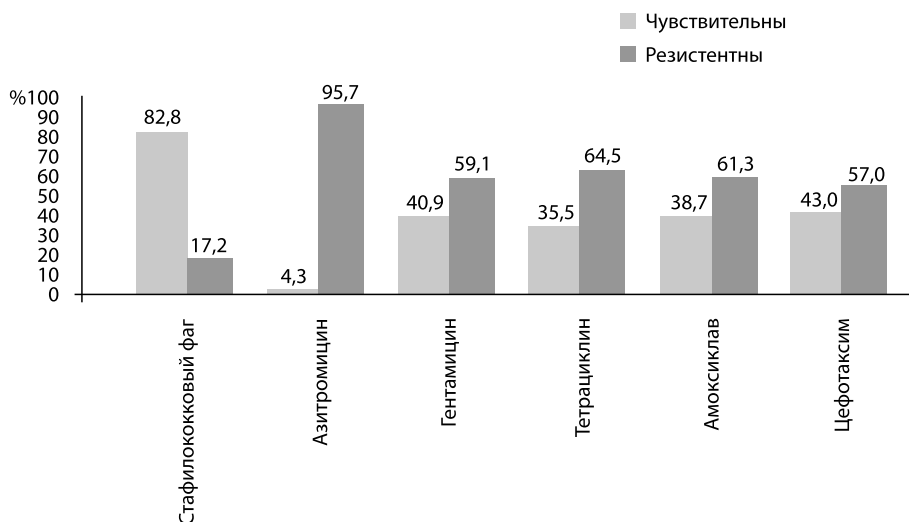
Выделенные штаммы протестированы на чувствительность к антибиотикам из разных их групп, а также к стафилококковому бактериофагу.

Максимальная устойчивость клинических изолятов золотистого стафилококка установлена к азитромицину – в  $95,7 \pm 9,9\%$  случаев. К другим антибиотикам большинство выделенных штаммов также оказалось резистентно, но их количество варьировало в пределах  $57,0 \pm 5,9$ – $64,5 \pm 6,7\%$ .

К стафилококковому бактериофагу чувствительность проявили  $82,8 \pm 8,6\%$  изолятов (рис. 1).

У 27 из 114 носителей *S. aureus* ( $23,7 \pm 2,2\%$ ) выявлены полирезистентные штаммы, устойчивые ко всем использованным антибиотикам. Причем у 6 из 27 человек выделенные штаммы стафилококков проявили устойчивость и к бактериофагу.

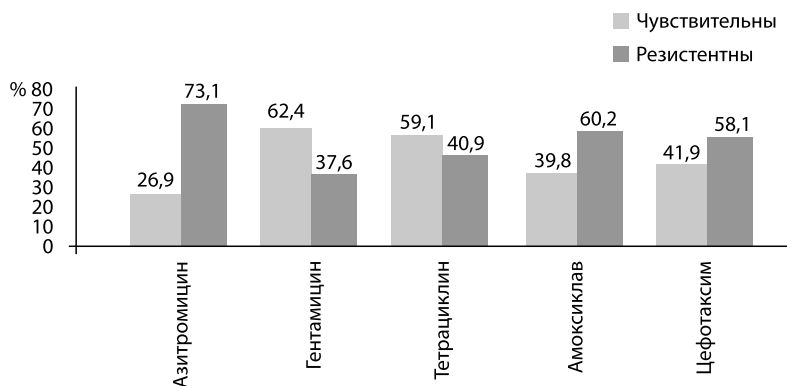
После определения чувствительности выделенных клинических изолятов *S. aureus* к антибиотикам выполнили оценку PAS-феномена. Провели совместное культивирование бульонных культур *S. aureus* с бактериофагом в МПБ 24 часа при температуре  $37^\circ\text{C}$ . Затем инокулировали по 100 мкл взвеси *S. aureus* на поверхность питательного агара с целью выявления жизнеспособных бактерий после совместного культивирования с фагом, пересеяли изолированные колонии на скошенный питательный агар с последующим получением суточной бульонной культуры и выполнили повторное определение чувствительности изолятов *S. aureus* к антибиотикам.



**Рис. 1. Результаты оценки чувствительности клинических изолятов *S. aureus* к антибиотикам и бактериофагу**  
**Fig. 1. Results of the assessment of *S. aureus* clinical isolates sensitivity against antibiotics and bacteriophages**

Оценка результатов диско-диффузионного метода показала, что количество устойчивых к антибиотикам штаммов уменьшилось после взаимодействия с бактериофагом (рис. 2).

Число устойчивых к азитромицину изолятов сократилось до  $73,1 \pm 7,6\%$ , к гентамицину – до  $37,6 \pm 3,9\%$ , тетрациклину – до  $40,9 \pm 4,2\%$ . Чувствительность к амоксилаву и цефотаксиму практически не изменилась, составив  $39,8 \pm 4,1\%$  и  $41,9 \pm 4,3\%$



**Рис. 2. Результаты оценки чувствительности изолятов *S. aureus* к антибиотикам после совместного культивирования с бактериофагом**  
**Fig. 2. Results of the assessment of *S. aureus* clinical isolates sensitivity against antibiotics after co-cultivation with a bacteriophage**

соответственно. Критическое значение t-критерия Стьюдента составило 2,101 при уровне значимости  $p=0,015$ .

Устойчивые к бактериофагам штаммы сохранили полирезистентность к антибиотикам.

## ■ ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительная оценка резистентности штаммов *S. aureus*, выделенных у носителей, в отношении различных групп антибактериальных препаратов показала статистически значимое увеличение количества чувствительных к азитромицину, гентамицину и тетрациклину изолятов после взаимодействия со стафилококковым бактериофагом.

Результат синергии бактериофагов и антибиотиков объясняется рядом авторов не простым суммированием бактерицидного действия этих препаратов, а иными механизмами [8]. Повышение чувствительности к антибиотикам среди устойчивых до взаимодействия со специфическим фагом изолятов золотистого стафилококка было объяснено вытеснением генов устойчивости из плазмид бактерий. Аналогичный эффект наблюдался при применении антибиотиков из групп  $\beta$ -лактамов и фторхинолонов против *E. coli* и *Yersinia* spp. [9], даптомицина и ванкомицина в отношении метициллинрезистентного *S. aureus* [10]. Рядом авторов установлено потенциальное влияние фага на подавление образования внеклеточных мембранных везикул.

Бактерии быстро приобретают устойчивость к бактериофагам за счет мутаций в генах, локализованных в плаزمиде. Однако установлено, что даже невысокая концентрация меропенема и цiproфлоксацина препятствует формированию мутаций, которые обеспечивают резистентность *P. aeruginosa* к фагам [11].

Культивирование *S. aureus* в жидкой питательной среде с кларитромицином, линезолидом, цефотаксимом, тетрациклином, цiproфлоксацином в концентрации, при которой бактерии не погибают, значительно увеличивает скорость размножения стафилококкового фага [10].

В ряде случаев воздействие антибиотиков приводит к филаментации бактерий и истончению клеточной стенки, что также облегчает взаимодействие литических фагов с ними [12].

Таким образом, синергическое действие антибиотиков и бактериофагов позволяет преодолеть сформированные бактериями механизмы устойчивости и восстановить их чувствительность к различным антибактериальным препаратам. Использование комбинаций специфических фагов и антибиотиков является эффективной и перспективной стратегией борьбы с полирезистентными микроорганизмами.

## ■ ВЫВОДЫ

1. *S. aureus* на слизистых оболочках полости носа и зева выявлен у  $69,9 \pm 5,5\%$  (114 из 163) студентов-медиков. Интенсивность колонизации слизистых варьировала от 6–11 до 350–700 КОЕ на тампон.
2. Клинические изоляты *S. aureus* проявили резистентность к азитромицину в  $95,7 \pm 3,9\%$  случаев, гентамицину – в  $59,1 \pm 6,1\%$ , тетрациклину – в  $64,5 \pm 6,7\%$ , амоксицилаву – в  $61,3 \pm 6,4\%$ , цефотаксиму – в  $57,0 \pm 5,9\%$ , стафилококковому фагу –

в  $17,2 \pm 1,8\%$  случаев. У  $23,7 \pm 2,2\%$  (27 из 114 человек) носителей *S. aureus* выявлены полирезистентные ко всем использованным антибиотикам штаммы, у 6 из 27 человек изоляты проявили устойчивость и к бактериофагу.

3. После совместного культивирования *S. aureus* с фагом число устойчивых к азитромицину изолятов сократилось до  $73,1 \pm 7,6\%$ , гентамицину – до  $37,6 \pm 3,9\%$ , тетрациклину – до  $40,9 \pm 4,2\%$  случаев. Количество устойчивых к амоксиклаву и цефотаксиму штаммов микроорганизмов практически не изменилось, составив  $60,2 \pm 6,2\%$  и  $58,1 \pm 6,0\%$  соответственно. Устойчивые к фагам штаммы сохранили резистентность к антибиотикам.
- 

## ■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

4. Popov D.A. Unresolved issues of antibiotic therapy of infections caused by *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2020;22(3):189–195. doi: 10.36488/cmac.2020.3.189-195 (in Russ.)
5. Grigorova E.V., Rychkova L.V., Belkova N.L., et al. Evaluation of the sensitivity of bacteriophage preparations to *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from the colon microbiota in children with functional gastrointestinal disorders. *Klin Lab Diagn*. 2021 Apr 17;66(4):217–222. doi: 10.51620/0869-2084-2021-66-4-217-222 (in Russ.)
6. Al-Wrafy F., Brzozowska E., Gyrska S., et al. Pathogenic factors of *Pseudomonas aeruginosa* – the role of biofilm in pathogenicity and as a target for phage therapy. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2017;Feb 14;71(0):78–91. doi: 10.5604/01.3001.0010.3792
7. Vakarina A.A., Aleshkin A.V., Rubalsky E.O., et al. Effect of virulent bacteriophages on antibiotic sensitivity of *Staphylococcus aureus* bacteria. *Astrakhan Medical Journal*. 2020;15(4):29–39. doi: 10.17021/2020.15.4.29.39 (in Russ.)
8. Punchenko O.E., Gostev V.V., Punchenko E.V., et al. Study of bacterial susceptibility to antibiotic and phage combinations: a literature review. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2024;101(5):699–705. doi: 10.36233/0372-9311-581 (in Russ.)
9. Shao X., Xie Y., Zhang Y., et al. Novel therapeutic strategies for treating *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Expert Opin Drug Discov*. 2020 Dec;15(12):1403–1423. doi: 10.1080/17460441.2020.1803274
10. Kovacs C.J., Rapp E.M., Rankin W.R., et al. Combinations of Bacteriophage Are Efficacious against Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* and Enhance Sensitivity to Carbapenem Antibiotics. *Viruses*. 2024 Jun 21;16(7):1000. doi: 10.3390/v16071000
11. Abdraimova N.K., Kornienko M.A., Bespiatikh D.A., et al. Combined effects of bacteriophage vB\_SauM-515A1 and antibiotics on the *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *Bulletin of the Russian State Medical University*. 2022;5:23–30. doi: 10.24075/vrgmu.2022.052 (in Russ.)
12. Jusiak-Szelachowska M., Mikdzybrodzki R., Drulis-Kawa Z., et al. Bacteriophages and antibiotic interactions in clinical practice: what we have learned so far. *J. Biomed Sci*. 2022;29(23). doi: 10.1186/s12929-022-00806-1
13. Kebriaei R., Lev K., Morrisette T., et al. Bacteriophage-Antibiotic Combination Strategy: an Alternative against Methicillin-Resistant Phenotypes of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2020 Jun 23;64(7):e00461–20. doi: 10.1128/AAC.00461-20
14. Oechslin F., Piccardi P., Mancini S., et al. Synergistic Interaction Between Phage Therapy and Antibiotics Clears *Pseudomonas Aeruginosa* Infection in Endocarditis and Reduces Virulence. *J. Infect. Dis*. 2017 Mar 1;215(5):703–712. doi: 10.1093/infdis/jiw632
15. Chang R.Y.K., Das T., Manos J., et al. Bacteriophage PEV20 and Ciprofloxacin Combination Treatment Enhances Removal of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Isolated from Cystic Fibrosis and Wound Patients. *AAPS J*. 2019 Apr 4;21(3):49. doi: 10.1208/s12248-019-0315-0



<https://doi.org/10.34883/PI.2026.15.2.003>



Khayrallah Eumayr Khalif Alhadidi✉, Haider Radhi Malih  
College of Science, University of Thi-Qar, Thi-Qar, Iraq

## Effects of Phenolic Compounds Isolated from Tamarix Aphylla on E. Coli Carrying the Fim-H Gene Isolated from Patients with Urinary Tract Infections

**Conflict of interest:** nothing to declare.

**Authors' contribution:** Khayrallah Eumayr Khalif Alhadidi – conceptualization, data curation, investigation, method, project administration, resources, visualization, writing – original draft and writing – review & editing; Haider Radhi Malih – conceptualization, data curation, investigation, method, supervision, validation, visualization, writing – original draft and writing – review & editing.

The article is published in author's edition.

Submitted: 24.01.2026

Accepted: 22.04.2026

Contacts: khairyalhadidy@gmail.com

### Abstract

**Introduction.** Antibiotic-resistant strains of numerous bacteria, including E. coli, the primary cause of urinary tract infections, have arisen as a result of the indiscriminate use of antibiotics, which affects individuals of all ages and cultures. Tamarix aphyllaa has antibacterial, antifungal, antiviral, antioxidant, and anti-inflammatory qualities and is common in the Iraqi environment.

**Purpose.** To determine the effects of Tamarix aphylla phenolic compounds on E. coli carrying the fim-H gene isolated from patients with urinary tract infections.

**Materials and methods.** An economical and low-cost approach was used to separate phenolic chemicals from the plant's leaves and stems; concentrations ranging from 100% to 5% (75%, 50%, 25%, 10%, and 5%) were created. Eosin-methylblue-Api-20E and 16srRNA were used to describe the E. coli bacteria that were recovered from patients with urinary tract infections. The criterion for the extract's antibacterial activity was the assessment of the zone of inhibition growth of bacteria cultured on Mueller-Hinton agar. The fim-H gene, one of the most well-known virulence factors in E. coli bacteria, was the focus of the genetic analysis of the bacteria. Genomic DNA was extracted using the Geneaid Kit.

**Results.** With the highest average inhibition zone of  $17.8 \pm 3.4$  at a 100% concentration and the lowest average concentration of  $1.2 \pm 1.8$  at a 5% concentration, tamarix aphylla displayed exceptional efficiency against E. coli bacteria. The study demonstrated that an increase in concentration is necessary for an increase in the inhibition zone. With the greatest effect (17.8) at 100% and the lowest at 5% (1.2), inhibition rose as concentration increased. The fim-H resistance gene was present in every isolate used in the investigation.

**Conclusion.** Tamarix aphylla possesses significant antibacterial activity against Escherichia coli isolated from urinary tract infections. The phenolic extracts showed a clear concentration-dependent inhibitory effect, with the highest antibacterial activity observed at the maximum concentration. The presence of the fim-H virulence gene in all isolates highlights the pathogenic potential of the studied strains and emphasizes the importance of identifying effective alternative antimicrobial agents.

**Keywords:** E. coli, tamarix aphylla, UTI, fim-H, phenol

Хайралла Юмайр Халиф Альхадиди✉, Хайдер Радхи Малих  
Научный колледж, Университет Ти-Кар, Ти-Кар, Ирак

## Влияние фенольных соединений растения *Tamarix aphylla* на выделенные у пациентов с инфекциями мочевыводящих путей штаммы *E. coli*, несущие ген *fim-H*

**Конфликт интересов:** не заявлен.

**Вклад авторов:** Хайралла Юмайр Халиф Альхадиди – концепция, обработка данных, проведение исследований, методология, ведение проекта, ресурсы, визуализация, написание чернового варианта статьи, редактирование; Хайдер Радхи Малих – концепция, научное руководство, обработка данных, проведение исследований, методология, проверка достоверности полученных результатов, визуализация, написание чернового варианта статьи, редактирование. Статья опубликована в авторской редакции.

Подана: 24.01.2026

Принята: 22.04.2026

Контакты: khairyalhady@gmail.com

### Резюме

---

**Введение.** В результате бесконтрольного применения антибиотиков появились устойчивые к ним штаммы множества бактерий, в том числе *E. coli* – основной причины инфекций мочевыводящих путей, от которых страдают люди всех возрастов и рас. Растение *Tamarix aphylla* (тамарикс безлистный), повсеместно встречающееся в Ираке, обладает антибактериальными, противогрибковыми, противовирусными, антиоксидантными и противовоспалительными свойствами.

**Цель.** Определить эффект воздействия фенольных соединений *Tamarix aphylla* на бактерии *E. coli*, несущие ген *fim-H*, выделенные у пациентов с инфекциями мочевыводящих путей.

**Материалы и методы.** Исследовано 74 пробы мочи на предмет изучения влияния фенольного экстракта из листьев и стеблей растения тамарикс безлистный (*Tamarix aphylla*) на несущие ген *fim-H* бактерии *E. coli*, выделенные у пациентов с инфекциями мочевыводящих путей. Использован не требующий больших финансовых затрат простой в исполнении метод экстракции фенольных соединений с получением растворов с концентрацией от 100% до 5% (75%, 50%, 25%, 10% и 5%). Для описания бактерий *E. coli*, выделенных у пациентов с инфекциями мочевыводящих путей, было применено окрашивание эозин-метиленовым синим – Ари-20Е с последующим анализом нуклеотидных последовательностей генов 16srRNA. Критерием антибактериальной активности экстракта служила оценка зоны ингибирования роста бактерий, выделенных на агаре Mueller-Hinton. В центре внимания генетического анализа бактерий находился ген *fim-H* – один из наиболее известных факторов вирулентности бактерий *E. coli*. Экстракция геномной ДНК осуществлялась с использованием Geneaid kit.

**Результаты.** Судя по показателям средней площади зоны ингибирования, наибольший эффект воздействия фенольных соединений на бактерии наблюдался при использовании 100%-ного раствора экстракта из растения тамарикс безлистный (максимальная средняя площадь зоны ингибирования составила  $17,8 \pm 3,4$ ), наименьший – при концентрации 5% экстракта, при которой отмечена минимальная средняя

площадь зоны ингибирования –  $1,2 \pm 1,8$ . Ингибирование усиливалось по мере увеличения концентрации раствора экстракта. Ген устойчивости *fim-H* был выявлен во всех изолятах, использованных в исследовании.

**Заключение.** Тамарикс безлистный обладает выраженной антибактериальной активностью в отношении *Escherichia coli*, выделенной из образцов мочи при инфекциях мочевыводящих путей. Фенольные экстракты проявили явный ингибирующий эффект, зависящий от концентрации раствора, причем наибольшая антибактериальная активность его наблюдалась при максимальной концентрации. Наличие гена вирулентности *fim-H* во всех изолятах свидетельствует о патогенном потенциале исследуемых штаммов и подчеркивает важность поиска эффективных альтернативных антимикробных препаратов.

**Ключевые слова:** *E. coli*, *Tamarix aphylla* (тамарикс безлистный), инфекции мочевыводящих путей (UTI), ген вирулентности *fim-H*, фенол

---

## ■ INTRODUCTION

Phenolic Substances "Polyphenols" and "plant phenolics" are secondary natural metabolites that originate biogenetically from either the shikimate/phenylpropanoid pathway, which directly creates phenylpropanoids, or the "polyketide" acetate/malonate system, which can produce simple phenols. These metabolites can generate polyphenols and monomeric and polymeric phenols, which have a wide range of physiological uses in plants [1].

Because they are present in the vacuole in mixed forms with sugars as heterosides, they are typically soluble in water. They both have an aromatic ring, but at least one hydroxyl group has taken the place of at least one aromatic compound ring [2].

Fruits, vegetables, cereals, bark, roots, stems, flowers, tea, and wine all contain phenolic structures. The positive effects of these natural items on health and endeavors are widely recognized [3]. Phenolic compound classification Simple and polyphenolic compounds are the two main categories of phenolic compounds simple phenol compounds with a basic skeleton consisting of at least one hydroxyl group joined to an aromatic ring [4].

Polyphenols: Phenolic compounds that contain more than one phenol unit are considered "polyphenol". Polyphenolic compounds have a C15 general skeleton representation. Plant foods are rich sources of phenolics, which are molecules that can act as antioxidants to prevent heart disease, reduce inflammation lower the incidence of cancers and diabetes as well as reduce rates of mutagenesis in human cells anti bacteria, antiviral and antifungal [2].

*Tamarix aphylla* Popular habitats include sand dunes, canals, riverbanks, wadi beds, salty deserts, salt marshes and coastal plains. The tree is drought, heat, salt and frost tolerant [3].

It is used as a carminative diuretic in tuberculosis, leprosy, and hepatitis. Various pharmacological properties have been shown by *T. aphylla*, such as antidiabetic, anti-inflammatory, antibacterial, antifungal, anticholinesterase, and wound-healing activity [5].

*E. coli* Straight, cylindrical rods that range in size from 1.1 to 1.5 to 2.0 to 6.0 microns can be found alone or in pairs as *E. coli*. Meet the general requirements of the Enterobacteriaceae family. Gram-negative, according to [6] either nonmotile or motile via

peritrichous flagella. Respiratory system that is both facultatively anaerobic and aerobic. Voges-Proskauer negative, methyl red positive, and glucose fermentation via the mixed acid route [7].

Strains of *Escherichia coli* (STEC) that produce the enterotoxin verotoxin, which is comparable to Shiga toxin [8].

*E. coli* strains, including urinary tract infection, septicemia, newborn meningitis, central nervous system and respiratory system infections. Several bacterial agents can cause diarrheal and urinary tract infections, among these *E. coli* strains are detected as an important cause of morbidity and mortality of diarrhea and UTI throughout the world [9]. The fim-H protein is produced as a precursor of 300 amino acids and is processed into a mature form of 279 amino acids. The fim-H gene is 903bp long and DNA sequence variations were common among commensal *E. coli*, intestinal pathogenic strains and extraintestinal pathogens. However, genetic variations were more common in intestinal pathogens and extraintestinal pathogens because stressful environment make these isolates adaptable by genotypic changes and consequently phenotypic variants were prevalent among these groups [10].

One of the serious risk factors for CKD is UTIs, which may also be the most common infectious disease associated with CKD patients [11].

UTI is an infection that occurs in any part of the urinary system, including the urethra, bladder, ureters, and kidneys. UTI was classified as either uncomplicated infections such as cystitis and pyelonephritis in people without any structural or neurological abnormalities of the urinary tract or complicated urinary tract infection include factors [12].

## ■ PURPOSE OF THE STUDY

To determine the effects of *Tamarix aphylla* phenolic compounds on *E. coli* carrying the fim-H gene isolated from patients with urinary tract infections.

## ■ MATERIALS AND METHODS

### **Pathogenic Bacteria Collection**

At the Al-Hussein Teaching Hospital in the Thi-Qar Governorate, 74 urine samples from patients with UTIs were taken.

Midstream Clean-Catch: After the first portion of the urine is emptied, collect a midstream specimen into a sterile container. Bacteria culture on MacConkey [13].

### **Collection Plant Samples**

The leaves and stems of the plant utilized in the study were obtained in the spring in the Nasiriyah region of southern Iraq during the beginning of March 2024. After drying, they were ground.

### **Separation of Polyphenols from *Tamarix aphylla* by Ultrasound-assisted Extraction**

Phenolic chemicals were extracted from *Tamarix aphylla* using ultrasound and a 30 : 70 ml water – ethanol combination. The extraction's outcomes at 45 °C, 250 volts, 24 hours, and 50/Hz UAE is based on the principle of acoustic cavitation ultrasound that induced via a series of compression and rarefaction waves in the molecules of the medium



through which it is capable of damaging the cell walls of plant matrix as well as favoring the release of bioactive compounds [14, 15].

Each 50 g of *Corymbia citriodora* was crushed and added to 500 mL of 70% ethanol in 1000 ml brown bottles. The mixture was subjected to the previously mentioned ultrasonic therapy while in an ultrasonic bath. The extraction sample was separated using a centrifuge, and Whatmann No. 1 was employed for treatment.

The diluted liquid was gathered and put in a separatory funnel in a rotating evaporator under vacuum at 45 °C. To lower solvent quantities to one-third of their initial levels, the filtered liquid was separated five times using half volume chloroform to create two layers (aqueous and chloroform layers). After the aqueous layer was extracted four times with half volume using ethyl acetate, the ethyl acetate layer was separated and evaporated under decreased pressure at a temperature of no more than 45 °C, resulting in a yellow/brown residue. After that, the extract is allowed to dry for a full day at room temperature [16].

### Stock Solution Preparation

To make a 100% concentration solution, dissolve 1 g of extracted material in 10 ml of dimethyl sulfoxide (DMSO). Sterilize the concentrated solution for each extract using a Millipore microfiltration filter with a diameter of 0.22 µm, and then repeat the 5% concentration [17].

### Determination of Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

On Mueller-Hinton agar, the bacteria were punched into wells with a diameter of 6 mm. The wells were then filled with 100 µl of plant extracts, with DMSO serving as the negative control. After the plates were incubated at 37 °C for 18 to 24 hours, the diameter of the inhibition zones (mm) was used to estimate the antimicrobial activity. Every test was conducted three times, and the average of the outcomes was calculated. Negative controls were evaluated using the extraction solvents [18].

### Genomic DNA Extraction

Genomic DNA was extracted from overnight bacterial cultures using the Geneaid kit. After centrifugation, cells were lysed with GST buffer and Proteinase K at 60 °C, followed by GSB buffer at 70 °C. Ethanol was added, and the lysate was applied to a GD column. The column was washed with W1 and Wash buffers, then dried. Pure DNA was eluted with pre-heated elution buffer. The primers of gene [18, 19] were listed in Table 1.

**Table 1**  
**Gene primer 16S<sub>r</sub>na, fim-H estB**

Gene name	Primer sequences	Annealing Temperature	Product Size (bp)
16srRNA E. coli	CGAGTGGCGGACGGGTGAGT	50 °C	727 bp
	TCGACATCGTTTACGGCGTGGA		
Fim-H	AACAGCGATGATTTCCAGTTTGTGTG	63 °C	465 bp
	TTGCGTACCAGCATTAGCAATGTCC		

## RESULTS

41 (56%) of the 74 urine samples that were cultivated on blood and MacConkey agar media had no culture. Staph. aureus 3 (4%), E. coli 21 (28%), M. catarrhalis 0%, P. aeruginosa 5 (7%), Kleb. pneumoniae 1 (1%), Ent. cloacae 3 (4%). Eosin-methyl blue medium, API 20E, and 16Srna were used to diagnosis E. coli bacteria, as shown in Figure 1. All isolates contain fim-H gene see Figure 2.

### Bioactive Phenolic Compounds

**Minimum Bacterial Concentration (MBC).** A very strong relationship emerged between increasing concentration and the inhibition zone, with the highest average

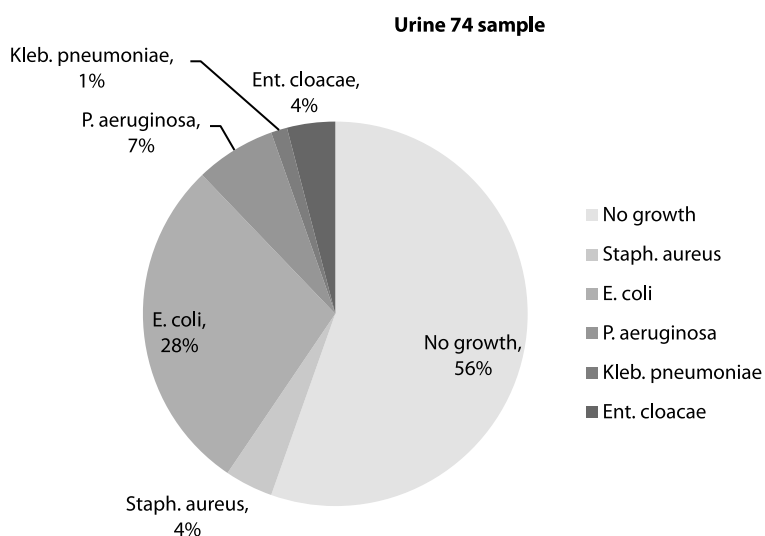


Fig. 1. Result of urine culture

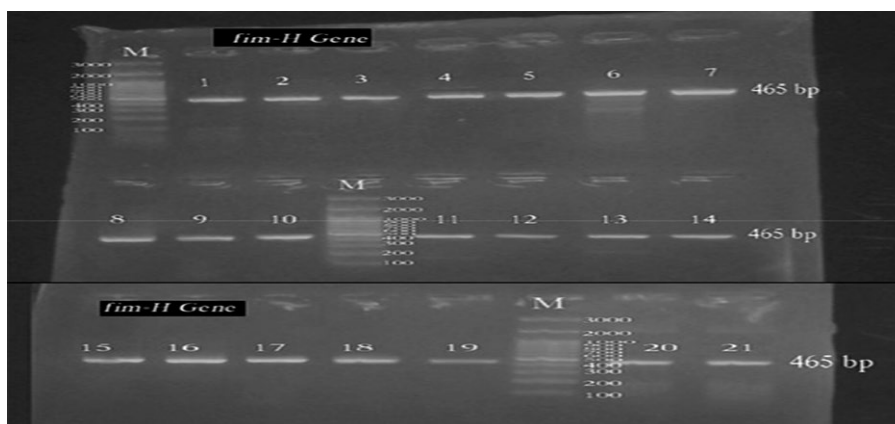


Fig. 2. Result of fim-H gene in E. coli



**Table 2**  
**Statistical analysis of the MBC areas of the extraction of Phenolic compounds of tamarix aphylla in bacteria, E. coli (At a probability level of <0.05)**

	No.	Concentration	Mean±SD (mm)	p-value
E. coli	21	100%	17.8±3.4	<0.001
E. coli	21	75%	15.0±3.7	0.002
E. coli	21	50%	11.6±3.6	<0.001
E. coli	21	5%	7.9±3.0	<0.001
E. coli	21	10%	4.7±3.0	<0.001
E. coli	21	5%	1.2±1.8	<0.001

inhibition zones appearing at 100% concentration (17.8±3.4). These zones then gradually decreased with decreasing concentration, reaching their lowest value (1.2±1.8) at 5% concentration, result as shown in Table 2.

## ■ DISCUSSION

Seventy-four urine samples were cultured on blood agar and MacConkey agar, and bacteria were identified using various methods. E. coli was identified using eosin-methyl blue medium, with a detection rate of 21% (28%), which is consistent with what was reported with [20] E. coli formed of the total sample 21 (23.3%) in urine.

According to the information given, the Tamarix aphylla extract has strong, dose-dependent, and statistically significant ( $p < 0.001$ ) antibacterial activity against Escherichia coli. The mean zone of inhibition, which dropped from 17.8 mm at the highest concentration to 1.2 mm at the lowest, clearly showed an inverse connection with extract concentration. This agrees with what was mentioned [21–23] earlier, where they showed that the excitability increases with increasing concentration, and as the concentration decreases, the effect decreases and the diameter of the inhibitory zones decreases.

The difference in response is due to the ability of the extract molecules to penetrate the cell wall and produce an effect that increases with the number of extract molecules. Increasing the concentration means increasing the number of molecules. Additionally, Tamarix aphylla possesses several pharmacological properties, such as antibacterial and anti-inflammatory effects. This is consistent with what he mentioned [24]. This activity is pharmacologically supported by the rich phytochemical makeup of Tamarix species and is consistent with their historic therapeutic usage.

## ■ CONCLUSION

Tamarix aphylla possesses significant antibacterial activity against Escherichia coli isolated from urinary tract infections. The phenolic extracts showed a clear concentration-dependent inhibitory effect, with the highest antibacterial activity observed at the maximum concentration. The presence of the fim-H virulence gene in all isolates highlights the pathogenic potential of the studied strains and emphasizes the importance of identifying effective alternative antimicrobial agents. Overall, Tamarix aphylla represents a promising natural source of antibacterial compounds that may contribute to the development of alternative treatments for antibiotic-resistant E. coli infections.

## ■ REFERENCES

1. Ramawat KG, Mérillon JM. Natural products. In: Ramawat KG, Mérillon JM, editors. *Natural Products*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag; 2013; 3497–3514 p.
2. Kougan GB, Tabopda T, Kuete V, Verpoorte R. Simple phenols, phenolic acids, and related esters from the medicinal plants of Africa. In: Kuete V, editor. *Medicinal Plant Research in Africa*. Amsterdam: Elsevier; 2013; 225–249 p.
3. Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoids: an overview. *J Nutr Sci*. 2016 Dec 29;5:e47. doi: 10.1017/jns.2016.41. Erratum in: *J Nutr Sci*. 2025;14:e11.
4. Orwa C, Mutua A, Kindt R, et al. *Tamarix aphylla* (L.) Karsten. *Agroforestry Database*. 2009;0:1–5.
5. Alshehri SA, Wahab S, Abullais SS, et al. Pharmacological efficacy of Tamarix aphylla: a comprehensive review. *Plants (Basel)*. 2021;11(1):118.
6. Turgeon ML. *Clinical Laboratory Science*. 2nd ed. St. Louis (MO): Elsevier; 2017.
7. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Medical Microbiology*. 9th ed. Philadelphia (PA): Elsevier; 2021.
8. Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. *Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6th ed. St. Louis (MO): Elsevier; 2019. 1–1060 p.
9. Esposito S, Bonanni P, Maggi S, et al. Recommended immunization schedules for adults: Clinical practice guidelines by EVASG, EUGMS and WAidid. *Hum Vaccin Immunother*. 2016;12(7):1777–1794.
10. Alameer RA. Genotyping of Escherichia coli isolated from clinical and hospital environments. *J Sci UTQ*. 2015;5(3).
11. Lai YM, Norgainathai R, Zaw MT, Lin Z. A new primer set for detection of fimH gene in Escherichia coli isolates. 2015;7(4):65–71.
12. Mohsin MA, Jameel SK. Study the antibacterial activity of probiotics against uropathogenic E. coli of chronic kidney disease patients. *Univ Thi-Qar J Sci*. 2025;21(2):61–67.
13. Salim AR, Şimşek SA. The relationship between TLR4 gene polymorphism (rs7873784 G/C) and urinary tract infections caused by multidrug-resistant bacteria among Iraqi patients. *Univ Thi-Qar J Sci*. 2025;12(2):1–8.
14. Chemat F, Rombaut N, Sicaire AG, et al. Ultrasound-assisted extraction of food and natural products: mechanisms, techniques, and applications. *Ultrason Sonochem*. 2017;34:540–560.
15. Medina-Torres N, Ayora-Talavera T, Espinosa-Andrews H. Ultrasound-assisted extraction for the recovery of phenolic compounds from vegetable sources. *Agronomy*. 2017;7(3):47.
16. Mason TJ, Vinatoru M, Calinescu I. Ultrasonically assisted extraction and microwave assisted extraction of functional compounds from plant materials. *Trends Anal Chem*. 2017;97:159–178.
17. Foroughi A, Pourzaghi Z, Zhaleh M, et al. Antibacterial activity and phytochemical screening of essential oil of Foeniculum vulgare. *Int J Pharm Clin Res*. 2016;8(11):1505–1509.
18. Al-Massarani S, El Dib R. In vitro evaluation of cytotoxic and antimicrobial potentials of Alhagi graecorum Boiss. *Pak J Pharm Sci*. 2015;28:1–6.
19. Bartoš O, Chmel M, Swierczková I. The overlooked evolutionary dynamics of 16S rRNA revises its role as the gold standard for bacterial species identification. *Sci Rep*. 2024;14(1):9067.
20. Hasan RN, Jasim SA, Ali YH. Detection of fimH, kpsMTII, hlyA, and traT genes in Escherichia coli isolated from Iraqi patients with cystitis. *Gene Rep*. 2022;26:101468.
21. Lhwak NS, Abbas YA. Detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase gene CTX-M-1 in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolated from urinary tract infections of pregnant women in Al-Nassyriah City. *University of Thi-Qar Journal of Science*, 2018;6(4):92–96.
22. Bouras K, Saoud N, Slamani S, et al. Phytochemical profile and antimicrobial activity of Tamarix gallica and Tamarix aphylla extracts against multidrug-resistant bacteria. *J Ethnopharmacol*. 2024;319(Pt 2):117247.
23. Khaliq A, Aslam F, Afridi SG. Phytochemical screening and antimicrobial activity of Tamarix aphylla leaves. *Pak J Pharm Sci*. 2021;34(2):567–572.
24. Marwah RG, Al-Mahrooqi A, Al-Saadi SH. In vitro antibacterial activity of Tamarix aphylla leaves and bark extracts against selected pathogenic bacteria. *J Taibah Univ Sci*. 2017;11(5):734–739.



<https://doi.org/10.34883/PI.2026.15.2.004>



Рогачева Т.А., Анисько Л.А.✉, Баюр Н.Г.

Городская клиническая инфекционная больница, Минск, Беларусь

## Современные возможности диагностики латентной туберкулезной инфекции у ВИЧ-инфицированных пациентов с использованием квантиферонового теста, реализуемого с применением лабораторно-диагностической системы QuantiFERON-TB Gold Plus

**Конфликт интересов:** не заявлен.

**Вклад авторов:** Рогачева Т.А. – анализ научного материала, концепция и дизайн исследования, проведение лабораторных исследований, написание текста; Анисько Л.А. – анализ научного материала, написание текста, редактирование; Баюр Н.Г. – проведение лабораторных исследований, статистическая обработка материала.

Подана: 10.07.2025

Принята: 19.02.2026

Контакты: lanisko@internet.ru

### Резюме

**Введение.** Туберкулезная инфекция (ТИ) представляет собой глобальную мировую проблему. Возбудителями ТИ являются *Mycobacterium tuberculosis complex* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*) или кислотоустойчивые микобактерии (КУМ). Наличие микобактерий туберкулеза в организме человека приводит либо к активной форме ТБ, при котором инкубационный период составляет от нескольких недель до нескольких месяцев и лет (у большинства инфицированных лиц в активную форму болезнь не переходит), либо к латентной форме туберкулезной инфекции (ЛТБИ) – состоянию персистирующего иммунного ответа на стимуляцию антигенами (АГ) *M. tuberculosis* без клинических признаков ТБ. При этом человек является бессимптомным носителем возбудителя ТБ.

**Цель.** Оценить возможность использования квантиферонового теста в диагностике латентной туберкулезной инфекции у ВИЧ-инфицированных пациентов.

**Материалы и методы.** За период 2019 – май 2025 г. в УЗ «Городская клиническая инфекционная больница» исследовано 2578 образцов крови пациентов на предмет диагностики ЛТБИ, для чего выполнено 10 312 иммуноферментных исследований по постановке квантиферонового теста (КФТ), реализуемого с применением тест-системы QuantiFERON-TB Gold Plus. Абсолютное большинство проб крови было получено от ВИЧ-инфицированных лиц – 2367 образцов (91,8%). При этом положительные результаты получены у 194 пациентов, что составило 7,5%.

**Результаты.** Анализ положительных результатов на ЛТБИ, полученных с помощью КФТ у ВИЧ-инфицированных лиц (159 результатов), показал, что преобладали образцы крови пациентов, у которых уровень гамма-интерферона ( $\gamma$ -IFN) превысил пороговые значения в обеих тестовых пробах (пробирках – TB1 и TB2): 116 образцов – 73,0%, в 26 пробах позитивный результат КФТ был зафиксирован только в пробирке TB2, в 17 концентрация  $\gamma$ -IFN была выше порогового уровня по TB1-пробирке. Кроме

того, уровень позитивности в КФТ исследованных образцов крови значительно отличался в целом и в пробирках с ТВ1- и ТВ2-антигенами туберкулина.

**Заключение.** На основании оценки полученных за анализируемый период данных считаем более информативным представлять результат КФТ-плюс с учетом уровня позитивности (в количественном выражении).

**Ключевые слова:** латентная туберкулезная инфекция, Mycobacterium tuberculosis complex, квантифероновый тест,  $\gamma$ -IFN, туберкулез

---

Rogacheva T., Anisko L.✉, Bayur N.  
City Clinical Hospital of Infectious Diseases, Minsk, Belarus

## Modern Opportunities for Diagnosing Latent Tuberculosis Infection in HIV-infected Patients Using the QuantiFERON Test, Implemented by the QuantiFERON-TB Gold Plus Laboratory Diagnostic System

**Conflict of interest:** nothing to declare.

**Authors' contribution:** Rogacheva T. – analysis of scientific material, study concept and design, laboratory tests, text writing; Anisko L. – analysis of scientific material, text writing the text, editing; Bayur N. – laboratory tests, statistics.

Submitted: 10.07.2025

Accepted: 19.02.2026

Contacts: lanisko@internet.ru

### Abstract

---

**Introduction.** Tuberculosis infection (TB), the causative agents of which are Mycobacterium tuberculosis complex (M. tuberculosis, M. bovis, M. africanum) or acid-resistant mycobacteria (KUM), is a global issue. The presence of mycobacterium tuberculosis in the human body leads either to an active form of TB, in which the incubation period ranges from several weeks to several months and years (in most infected individuals, the disease does not become active), or to a latent form of tuberculosis infection (LTBI): a state of persistent immune response to the stimulation by antigens (AH) M. tuberculosis with no clinical signs of TB. At the same time, a person is an asymptomatic carrier of the TB pathogen.

**Purpose.** To evaluate possibilities of using QFT for diagnosing LTBI in HIV-infected patients.

**Materials and methods.** During the period 2019 – May 2025, a total of 2,578 blood samples were tested at the Municipal Clinical Infectious Diseases Hospital and 10,312 ELISA were performed. Of these, the absolute majority of blood samples were obtained from HIV-infected individuals: 2,367 samples (91.8%). Positive results were obtained in 194 patients (7.5%).

**Results.** An analysis of the positive LTBI results obtained by QFT in HIV-infected subjects (159 results) showed that the samples in whose blood  $\gamma$ -IFN exceeded the threshold values in both test tubes, TV1 and TV2 (116 samples (73.0%)), prevailed; in 26 samples a positive QFT result was recorded only in the TV2 tube, and in 17 samples  $\gamma$ -IFN concentration was

above the threshold level for the TV1 tube. In addition, the level of positivity in the QFT of the blood samples tested differed significantly in general as well as in tubes with TB1 and TB2 tuberculin antigens.

**Conclusion.** Based on the data obtained for the analyzed period, we consider it more informative to present QFT-plus results taking into account the level of positivity (quantitative test).

**Keywords:** latent tuberculosis infection, *Mycobacterium tuberculosis* complex, quantiferon test,  $\gamma$ -IFN, tuberculosis

---

## ■ ВВЕДЕНИЕ

Туберкулез – одно из давно известных человечеству заболеваний, сведения о котором приводятся еще в Ведах (якшма – болезнь истощения), древнегреческой, китайской и арабской литературе. Археологические свидетельства (поражения позвонков), обнаруженные у мумий египетской прединнастической и перуанской доколумбовой эпох, свидетельствуют о существовании *Mycobacterium* на Земле более 150 миллионов лет.

Заболевания, вызванные туберкулезной инфекцией, представляют собой глобальную мировую проблему. Возбудителями их являются *Mycobacterium tuberculosis* complex (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*) или кислотоустойчивые микобактерии (КУМ). По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в 2017 г. в мире было зарегистрировано 10,4 миллиона случаев туберкулеза (ТБ), две трети из которых приходились на 8 стран: Индию (27%), Китай (9%), Индонезию (8%), Филиппины (6%), Пакистан (5%), Нигерию (4%), Бангладеш (4%) и Южную Африку (3%). Заболевание особенно распространено среди групп населения с низким социально-экономическим статусом и маргинализированных слоев общества.

Наличие микобактерий туберкулеза в организме человека приводит либо к активной форме ТБ, при которой инкубационный период составляет от нескольких недель до нескольких месяцев и лет (у большинства инфицированных лиц в активную форму болезнь не переходит), либо к латентной форме туберкулезной инфекции (ЛТБИ) – состоянию персистирующего иммунного ответа на стимуляцию антигенами (АГ) *M. tuberculosis* без клинических признаков ТБ. При этом человек является бессимптомным носителем возбудителя ТБ [1].

По данным ВОЗ, около 30% населения мира имеют ЛТБИ, из них в 5–10% случаев при воздействии неблагоприятных факторов (снижении иммунитета) латентная инфекция может перейти в активный ТБ (с выделением КУМ).

В настоящее время имеется утвержденная документация, касающаяся требований и рекомендаций экспертного комитета ВОЗ по выявлению, наблюдению, лабораторной диагностике ЛТБИ, разработаны алгоритмы для профилактики развития активного ТБ. Общеизвестно, что для эффективной борьбы с ТБ главным становится раннее выявление и профилактическое лечение ЛТБИ. Согласно рекомендациям, скринингу на ЛТБИ подлежат дети и подростки, медицинский персонал, лица, имеющие контакт с больным ТБ, получающие цитостатическую, лучевую терапию, иммуносупрессивные и другие препараты, находящиеся на гемодиализе, имеющие пневмококиоз, сопутствующие заболевания, способствующие снижению

иммунитета (онкопатология, иммунодефициты, ВИЧ-инфицированные и другие), мигранты из стран с широким распространением ТБ, потребители наркотиков, лица, прибывшие из мест лишения свободы.

Основным скрининговым тестом для выявления инфицирования КУМ в нашей стране является кожная проба на туберкулин (ТКП или TST) или проба Манту, которая используется более 100 лет во всем мире (*in vivo*). Проба Манту имеет ряд недостатков, основными из которых являются:

- низкая диагностическая специфичность теста (приблизительно 59%), при котором наблюдается большое количество ложноположительных результатов, вызванных рядом причин (вследствие БЦЖ-вакцинации, аллергии, иммунной реактивности к нетуберкулезным бактериям и др.);
- низкая диагностическая чувствительность (около 70%) из-за ложноотрицательных результатов у лиц с активным ТБ и иммуносупрессией.

Кроме того, для назначения пробы Манту имеется ряд противопоказаний: острые и некоторые хронические инфекционные заболевания, соматические, кожные болезни при их обострении, эпилепсия, аллергические состояния, индивидуальная непереносимость туберкулина и другие.

Особенностью противотуберкулезного иммунитета является то, что он нестерилен и обусловлен главным образом клеточным звеном.

Субпопуляции лимфоцитов CD4 и CD8 распознают антигены (АГ) микобактерий и отвечают защитной иммунной реакцией. При этом субпопуляция лимфоцитов CD4 играет основную роль в иммунологическом ответе на развитие ТБИ благодаря секреции ими цитокинов, гамма-интерферона ( $\gamma$ -IFN). CD8-лимфоциты также секретируют  $\gamma$ -IFN и другие растворимые факторы, которые активируют макрофаги, уничтожающие клетки, инфицированные КУМ, а также осуществляют лизис микобактерий непосредственно в клетке [2].

Некоторые авторы отмечают, что иммунный ответ, опосредованный CD8-лимфоцитами, обнаруживается чаще у лиц с активным ТБ, чем у пациентов с ЛТБИ [3].

Согласно рекомендациям ВОЗ, для выявления ЛТБИ все большее значение приобретает так называемый анализ высвобождения  $\gamma$ -интерферона, или метод IGRA (interferon-gamma release assay) либо QuantiFERON-TB (QFT), – квантифероновый тест, который используют контролирующие органы США (FDA), Евросоюза (EMA), профессиональные ассоциации по фтизиатрии России. Метод IGRA внесен в национальные рекомендации многих (более 17) крупнейших стран мира. В 2019 г. КФТ внедрен в Республике Беларусь.

В настоящее время применяется усовершенствованная версия данного метода – QuantiFERON-TB Gold Plus, или квантифероновый тест-плюс (КФТ+).

КФТ представляет собой достаточно простой метод исследования крови человека для установления факта инфицированности *M. tuberculosis complex* при активном ТБ, а также выявления ЛТБИ.

Преимуществами КФТ перед внутрикожными пробами являются: высокая диагностическая специфичность (98%) и диагностическая чувствительность (95%) теста, контролируемость его результатов (включает серию контролей для каждого образца и исследования в целом). Важным представляется и то, что вакцинация БЦЖ не влияет на результаты КФТ [4].

## ■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить возможность использования квантиферонового теста в диагностике латентной туберкулезной инфекции у ВИЧ-инфицированных пациентов.

## ■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 2578 пациентов, из которых 2367 были лицами с ВИЧ-позитивным статусом (91,8%). Для оценки иммунного статуса к *M. tuberculosis* использовалась методология, реализуемая с применением тест-системы QuantiFERON-TB Gold Plus производства QIAGEN, США. Ход аналитического исследования с ее применением основан на определении уровня  $\gamma$ -IFN в пробах исследуемой крови с использованием твердофазного непрямого иммуноферментного анализа (ТФ НИФА) путем оценки иммунного клеточного ответа (CD4, CD8) на пептидные антигены ESAT-6, CFP-10 TB7.7(p4), ассоциирующиеся с инфекцией *M. tuberculosis*. Смесь рекомбинантных, синтетически полученных пептидов (ESAT-6, CFP-10), сорбированных на внутренней поверхности тест-пробирок, имитирует протеины МБТ (ESAT-6 и CFP-10), особенностью которых при их наличии в крови является стимулирование субпопуляций CD4 и CD8, в ответ на что те продуцируют  $\gamma$ -IFN в пробах исследуемой крови.

Важно, что протеины микобактерий ESAT-6 и CFP-10 отсутствуют во всех штаммах, входящих в состав BCG-вакцины, в большинстве нетуберкулезных микобактерий (за исключением *M. kansasii*, *M. szulgai*, *M. marinum*).

Следует отметить, что для получения корректных и достоверных результатов КФТ необходимо строго соблюдать требования преаналитического этапа исследования, причем как внелабораторного, так и внутрилабораторного.

Кровь для исследования методом КФТ забиралась в 4 специальные вакуумные пробирки, содержимое которых тщательно перемешивалось сразу же после взятия биологического материала, чтобы вся внутренняя поверхность пробирок покрылась исследуемой кровью (для растворения антигенов, сорбированных на стенках тест-пробирок). Для анализа требуется 4 мл цельной крови, вносимых по 1 мл в каждую из 4 тестовых пробирок.

Для получения надежных результатов исследования требуется соблюдать ряд условий. Так, температура пробирок при взятии крови должна быть 17–25 °С. Хранение и транспортировка образцов крови также должны осуществляться при комнатной температуре. Пробирки QFT-Plus в кратчайшие сроки инкубировались при 37±10 °С (не позднее 16 часов после взятия крови) в течение 16–24 часов при 37 °С. При необходимости образцы отобранной плазмы крови после инкубации хранились до 28 суток при температуре 2–8 °С (допускается однократное замораживание отобранных аликвот крови при –20 °С и ниже).

При выполнении ИФА образцы плазмы из соответствующих 4 пробирок с кровью от одного пациента вносили в строго определенные ряды лунок микропланшета тест-системы QFT-Plus ELISA. При каждой постановке ИФА обязательно используются 2 стандарта в 4 разведениях. Для каждого образца исследуемой плазмы крови предусмотрены:

- две тестовые пробирки, в которых определяется количество  $\gamma$ -IFN: пробирка TB1 содержит пептиды ESAT-6 и CFP-10 МБТ (туберкулин 1), которые служат для стимулирования иммунного ответа со стороны CD4+ лимфоцитов; пробирка TB2 имеет

набор пептидов – те же ESAT-6, CFP-10 и дополнительные пептиды МБТ (туберкулин 2) для индукции  $\gamma$ -IFN CD4- и CD8-клетками;

- отрицательный контроль (К-) или нулевая пробирка (Nil);
- положительный контроль (К+) или пробирка с митогеном.

Для анализа и расчета результатов ИФА было применено программное обеспечение QFT-Plus Analysis Software, которое предусматривает контроль качества выполненного ИФА – по 2 стандартам, К- и К+ для каждой пробы, значения которых должны входить в допустимый диапазон; расчет количества  $\gamma$ -IFN (в МЕ/мл) в исследуемой плазме по TB1- и TB2-пробиркам.

Интерпретация количественных результатов КФТ на ЛТБИ (в IU/ml) проводится по следующим критериям:

- 1) положительный результат теста QFT-Plus – если уровень ответа  $\gamma$ -IFN в любой из пробирок с АГ туберкулина (TB1 или TB2) или в обеих превышает значение  $\gamma$ -IFN в нулевой контрольной пробирке (К-) данного образца более чем на 0,35 оптической единицы (ОЕ);
- 2) отрицательный результат QFT-Plus – отсутствие ответа  $\gamma$ -IFN в обеих тестовых пробирках с АГ туберкулина (TB1, TB2) (менее 0,35 ОЕ);
- 3) сомнительный результат КФТ наблюдается при слабом иммунном ответе на митоген (К+) – менее 0,5 IU/ml. Такая ситуация может наблюдаться при малом количестве лимфоцитов в крови, невозможности лимфоцитов пациента продуцировать  $\gamma$ -IFN, снижении активности лимфоцитов из-за неправильной обработки образца, неправильного заполнения или перемешивания крови в пробирке с митогеном.

По данным литературы, не исключены ложноотрицательные результаты КФТ, которые могут быть обусловлены:

- стадией первичного инфицирования КУМ (например, когда кровь для исследования взята до того, как развилась клеточная иммунная реакция);
- нарушениями в иммунной системе организма (при других заболеваниях);
- нарушениями преаналитических требований подготовки пробирок после взятия крови;
- несоблюдением инструкции по проведению теста и другими причинами.

Нулевая контрольная пробирка (К-) используется для коррекции фоновых реакций (ОП менее 0,15 ОЕ в норме), контрольная проба может иметь высокие значения ОП в следующих случаях: при наличии исходного высокого уровня  $\gamma$ -IFN в исследуемой пробе или из-за присутствия в пробе гетерофильных, перекрестно реагирующих антител. Протеины ESAT-6 и CFP-10 отсутствуют во всех штаммах BCG и в большинстве нетуберкулезных микобактерий, однако положительный результат QFT-Plus может быть обусловлен наличием инфекции *M. kansasii*, *M. szulgai*, *M. marinum*.

## ■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

За период 2019 – май 2025 г. в УЗ «Городская клиническая инфекционная больница» исследовано 2578 образцов крови, выполнено 10 312 иммуноферментных исследований. Из них абсолютное большинство проб крови было получено от ВИЧ-инфицированных лиц – 2367 образцов (91,8%). Положительные результаты получены у 194 пациентов, что составило 7,5%.

Анализ положительных результатов на ЛТБИ, полученных с помощью КФТ у ВИЧ-инфицированных лиц (159 результатов), показал, что преобладали пробы крови

пациентов, у которых  $\gamma$ -IFN превысил пороговые значения в обеих тестовых пробирках – TB1 и TB2 (116 образцов – 73,0%), в 26 пробах позитивный результат КФТ был зафиксирован только в пробирке TB2, в 17 концентрация  $\gamma$ -IFN была выше порогового уровня по TB1-пробирке (табл. 1).

Как уже было отмечено, результаты КФТ (согласно инструкции по применению теста и программному обеспечению), носили качественный характер: отрицательный, положительный, сомнительный. Однако следует отметить, что уровень позитивности в КФТ исследованных образцов крови значительно отличался в целом и в пробирках с TB1- и TB2-антигенами туберкулина. Так, низкая концентрация  $\gamma$ -IFN – от 0,36 до 0,6 IU/ml – получена в 37 образцах, позитивных на ЛТБИ в КФТ (23,3%). Средний уровень позитивности по индукции  $\gamma$ -IFN (0,61–2,5 IU/ml) наблюдался в большинстве образцов плазмы – в 84 пробах, что составило 52,8%. Высокие значения  $\gamma$ -IFN (2,6–9,0 IU/ml) выявлены в 26 случаях. В некоторых пробах крови концентрация

**Таблица 1**  
**Количественная характеристика положительных результатов КФТ на ЛТБИ у ВИЧ-инфицированных лиц**  
**Table 1**  
**Quantitative characteristics of the positive results of QFT on LTBI in HIV-infected subjects**

Диапазон ОП, IU/ml	Количество проб		
	TB1+ TB2+	TB1+ TB2–	TB1– TB2+
0,33–0,6	22	6	9
0,61–2,5	60	8	16
2,51–9,0	24	2	0
Более 10	10	1	1
ВСЕГО (159)	116	17	26

**Таблица 2**  
**Содержание CD4- и CD8-лимфоцитов в образцах крови ВИЧ-инфицированных лиц, положительных по КФТ на ЛТБИ**  
**Table 2**  
**CD4 and CD8 lymphocytes levels in blood samples of HIV-infected subjects having positive QFT results for LTBI**

Количество лимфоцитов, $\times 10^6/\text{л}$	Количество проб крови	
	с CD4	с CD8
Менее 100	2	0
101–200	8	0
201–300	9	3
301–400	15	6
401–500	22	14
501–699	18	27
700–1000	35	38
1001–1260	11	14
1261–1600	0	11
1601–2000	0	5
Более 2000	0	2
ВСЕГО	120	120

g-ИФ, опосредованная антигенами, ассоциированными с МБТ, была очень высокой – более 10,0 IU/ml – в 12 образцах (около 7,5% от общего количества положительных в КФТ проб).

Анализ количества субпопуляций лимфоцитов CD4 и CD8 в позитивных образцах крови на ЛТБИ в КФТ, полученных от ВИЧ-инфицированных лиц, показал, что количество CD8-клеток крови в данной категории пациентов было больше, чем CD4. Так, нормальное количество CD4 ( $710-1600 \times 10^6/\text{л}$ ) выявлено в 46 образцах, в то время как CD8-лимфоцитов (в норме  $400-1600 \times 10^6/\text{л}$ ) – в 111 образцах. Кроме того, малое количество субпопуляции CD4-лимфоцитов регистрировалось почти в 8 раз чаще (в 74 случаях), чем CD8 – только в 9 образцах от общего количества позитивных проб крови на ЛТБИ в КФТ (табл. 2).

Следует отметить, что из общего количества исследованных проб крови в КФТ в 18 образцах был получен сомнительный результат (0,7%). В большинстве случаев это были пробы с отрицательными значениями в пробирках с митогеном (К+). Из данной категории проб чаще всего сомнительный результат был обусловлен низкими значениями К+ – 13 проб, в 5 случаях – высоким результатом в пробирке с отрицательным контролем (К–). Причем при положительных уровнях  $\gamma$ -IFN в пробирках TB1 и TB2 (выше пороговых значений) и низких значениях К+ (менее 0,5 OE) выдавался позитивный результат.

По данным литературы, причины низких значений К+ могут быть как объективного характера – вследствие низкого иммунного статуса пациента, так и субъективного: погрешности преаналитического этапа взятия крови, подготовки образцов к исследованию, проведению ИФА. Наглядным доказательством служат результаты одной из проб: CD4 – 25 клеток в 1 мкл крови, CD8 – 170 лимфоцитов/мкл при общем количестве лейкоцитов  $2,25 \times 10^6/\text{л}$ , из них 8,4% лимфоцитов. Данным пациентам назначать исследование на ЛТБИ с помощью КФТ не оправдано.

Некоторые авторы также указывают, что при низком уровне содержания субпопуляции лимфоцитов CD4 – менее 200 клеток в 1 мкл – иммунный ответ на стимуляцию антигенами микобактерий может быть снижен. Среди обследованных пациентов с ВИЧ-инфекцией и количеством CD4 менее 200 было 10 положительных проб крови, из них в 5 образцах уровень  $\gamma$ -IFN превысил пороговые значения в обеих пробирках (TB1 и TB2), в 1 образце – только TB1, в 3 образцах – TB2. Следует отметить, что в последнем случае обе пробы крови содержали самое малое количество CD4-клеток (88 и 140).

Анализ положительных результатов КФТ по одной из 2 пробирок (либо TB1, либо TB2) показал, что чаще уровень  $\gamma$ -IFN был выше порогового в пробирке TB2, как и уровень позитивности в целом. Это вполне объяснимо наличием в них дополнительных АГ, стимулирующих иммунный ответ со стороны CD8-лимфоцитов.

По данным литературы, положительный результат КФТ по пробиркам TB2 свидетельствует о вероятности наличия активного туберкулезного процесса, в то время как только по TB1 – о латентной туберкулезной инфекции [5].

## ■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты, полученные методом лабораторной диагностики латентной туберкулезной инфекции с использованием набора реагентов QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus, или КФТ+) производства QIAGEN, США, требуют дальнейшего осмысления

и сопоставления с клиническими данными по дальнейшему наблюдению за ВИЧ-инфицированными пациентами в плане профилактики угрозы развития туберкулеза.

Считаем, что результат КФТ+ следует не только выдавать как качественный: положительный, отрицательный, неопределенный, но и сопровождать его другими характеристиками теста, в том числе количественными.

В числе таковых:

- уровень позитивности, при этом возможен вариант использования коэффициента позитивности (отношение концентрации  $\gamma$ -IFN в исследуемой пробирке к пороговому уровню);
- информирование о том, по какой пробирке был получен положительный результат – по TB1, TB2 или обеим;
- целесообразность повторного исследования образцов (например, при высоких значениях ОП в «0» пробирке К-;
- при сомнительном результате анализа – низком значении ОП пробирки с митогеном (К+) – рекомендация к повторному исследованию (через некоторое время).

При отрицательном результате КФТ и низком содержании в крови CD4- и CD8-лимфоцитов (менее 200 клеток в 1 мкл) исследование рекомендуется повторить после восстановления количества Т-клеток.

Для исключения вероятности ложноположительного результата повторно исследовать образцы с низким уровнем позитивности (по крайней мере с 0,35–0,40 МЕ/мл) желательно через вполне определенный промежуток времени (например, месяц).

---

## ■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Natarajan A., Beena P.M., Devnikar A.V., et al. A systemic review on tuberculosis. *Indian J. Tuberc.* 2020;67(3):295–311.
2. Boom W.H., Schaible U.E., Achkar J.M. The knowns and unknowns of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J. Clin. Invest.* 2021;131(3):136222. <https://www.jci.org/articles/view/136222>
3. Palanivel J., Sounderrajan V., Thangam T., et al. Latent Tuberculosis: Challenges in Diagnosis and Treatment, Perspectives, and the Crucial Role of Biomarkers. *Curr. Microbiol.* 2023;80(12):392.
4. Mensah G.I., Addo K.K., Tetteh J.A., et al. Cytokine response to selected MTB antigens in Ghanaian TB patients, before and at 2 weeks of anti-TB therapy is characterized by high expression of IFN- $\gamma$  and Granzyme B and interindividual variation. *BMC Infect. Dis.* 2014;14(1):495. <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2334-14-495>
5. Shafeque A., Bigio J., Hogan C.A., et al. Fourth-Generation QuantiFERON-TB Gold Plus: What Is the Evidence? *J. Clin. Microbiol.* 2020;58(9). <https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.01950-19>



Zena Loay Abdul Jabbar<sup>1</sup>, Asmaa M. Salih Almohaidi<sup>2</sup>✉

<sup>1</sup> College of Science for Women, University of Baghdad, Baghdad, Iraq

<sup>2</sup> Institute of Laser for Postgraduate Studies, University of Baghdad, Baghdad, Iraq

## PvcABCD Operon Genetic Diversity in Different Clinical *P. aeruginosa* Isolates

**Conflict of interest:** nothing to declare.

**Authors' contribution:** Zena Loay Abdul Jabbar – conceptualization, investigation, methodology, project administration, resources, software, validation, visualization, writing – original draft; Asmaa M. Salih Almohaidi – conceptualization, data curation, investigation, methodology, project administration, validation, visualization, writing – original draft and writing – review & editing.

**Ethics statement:** the planned study was approved by the Department of Biology Sciences, College of Science for Women, University of Baghdad (2024).

The article is published in author's edition.

Submitted: 26.01.2026

Accepted: 28.04.2026

Contacts: asmaams\_bio@csu.uobaghdad.edu.iq

### Abstract

**Introduction.** *Pseudomonas aeruginosa* is an opportunistic gram-negative microorganism that can cause infections requiring medical attention and is characterized by pronounced resistance to antibiotics.

**Purpose.** To evaluate genetic diversity with the gene expression of the pvcABCD operon in clinical *P. aeruginosa* isolates obtained in Baghdad, Iraq.

**Materials and methods.** A total of 137 clinical samples were collected from various sources, from which (26) *P. aeruginosa* isolates were confirmed by PCR targeting the 16S rRNA and gyrB genes. Expression of pvcA – pvcD was assessed by RT-qPCR using rpoD as a reference gene and the  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  method. Genetic relatedness and sequence variation were evaluated using ERIC-PCR and Sanger sequencing of pvcA and pvcC.

**Results.** This study demonstrates that clinical *P. aeruginosa* isolates exhibit differential regulation of the pvcABCD operon, characterized by down-regulation of pvcA and up-regulation of pvcB, pvcC, and pvcD. The limited silent and missense mutations identified in pvcA and pvcC suggest that bacterial adaptation relies primarily on compensatory regulatory mechanisms that fine – tune gene expression under clinical stress conditions. In parallel, the observed genetic diversity and clustering of multidrug-resistant isolates, particularly from burn and diabetic foot ulcer sources, support the potential for hospital-associated transmission of adapted strains and highlight their epidemiological significance.

**Conclusion.** Clinical *P. aeruginosa* isolates showed differential regulation of the pvcABCD operon, with down-regulation of pvcA and up-regulation of pvcB, pvcC, and pvcD. ERIC-PCR revealed genetic diversity with clustering of burn and diabetic foot ulcer isolates sharing similar resistance profiles, while pvcA and pvcC sequencing indicated high conservation with limited mutations linked to increased gene expression.

**Keywords:** *Pseudomonas aeruginosa*, pvc genes, Sequencing, Antibiotic susceptibility, RT-qPCR, ERIC-PCR



Зена Лоай Абдул Джаббар<sup>1</sup>, Асмаа М. Салих Альмохаиди<sup>2</sup>✉

<sup>1</sup> Научный колледж для женщин, Багдадский университет, Багдад, Ирак

<sup>2</sup> Институт лазерных технологий по программе последиplomного образования, Багдадский университет, Багдад, Ирак

## Генетическое разнообразие оперона *rvcABCD* в различных клинических изолятах *P. aeruginosa*

**Конфликт интересов:** не заявлен.

**Вклад авторов:** Зена Лоай Абдул Джаббар – концепция, проведение исследований, методология, ведение проекта, ресурсы, программное обеспечение, проверка достоверности полученных результатов, визуализация, написание черного варианта статьи, редактирование; Асмаа М. Салих Альмохаиди – концепция, обработка данных, проведение исследований, методология, ведение проекта, проверка достоверности полученных результатов, визуализация, написание черного варианта статьи, редактирование.

**Этическое заявление:** исследование было одобрено кафедрой биологических наук Научного колледжа для женщин Багдадского университета (2024).

Статья опубликована в авторской редакции.

Подана: 26.01.2026

Принята: 28.04.2026

Контакты: asmaams\_bio@csuw.uobaghdad.edu.iq

### Резюме

**Введение.** *Pseudomonas aeruginosa* – условно-патогенный грамотрицательный микроорганизм, способный вызвать инфекции, требующие оказания медицинской помощи и отличающийся выраженной устойчивостью к антибиотикам.

**Цель.** Провести анализ генетического разнообразия по экспрессии гена оперона *rvcABCD* в клинических изолятах *P. aeruginosa*, полученных в Багдаде, Ирак.

**Материалы и методы.** В общей сложности было отобрано 137 клинических образцов из различных источников, из которых в 26 изолятах было подтверждено наличие *P. aeruginosa* методом ПЦР с использованием генов *16S rDNA* и *gyrB* в качестве мишеней. Экспрессию *rvcA* – *rvcD* оценивали методом ПЦР в реальном времени с использованием *rpoD* в качестве референсного гена, а также методом 2–ΔΔCt. Генетическое родство и вариабельность последовательностей оценивали с помощью повторяющейся межгенной консенсусной ПЦР энтеробактерий и секвенирования по Сэнгеру генов *rvcA* и *rvcC*.

**Результаты.** Согласно полученным данным, клинические изоляты *P. aeruginosa* проявляют дифференциальную регуляцию оперона *rvcABCD*, характеризующуюся снижением экспрессии гена *rvcA* и повышением экспрессии генов *rvcB*, *rvcC* и *rvcD*. Ограниченное количество молчащих и миссенс-мутаций, выявленных в *rvcA* и *rvcC*, предполагает, что адаптация бактерий базируется в основном на компенсаторных регуляторных механизмах, которые «тонко» настраивают экспрессию генов в условиях клинического стресса. Параллельно наблюдаемое генетическое разнообразие и кластеризация мультирезистентных изолятов, особенно из ожоговых ран и диабетических язв стопы, подтверждают потенциальную возможность внутрибольничной передачи адаптированных штаммов и подчеркивают их эпидемиологическое значение.

**Заключение.** Исследование продемонстрировало дифференциальную регуляцию оперона *rvcABCD* в клинических изолятах *P. aeruginosa* с понижением экспрессии гена *rvcA* и повышением экспрессии генов *rvcB*, *rvcC* и *rvcD*. Повторяющаяся

межгенная консенсусная ПЦР энтеробактерий выявила генетическое разнообразие с кластеризацией в изолятах, полученных из ожоговых ран и диабетических язв стопы, имеющих схожие профили резистентности. В то же время секвенирование *pvcA* и *pvcC* показало высокую консервативность с ограниченным количеством мутаций, связанных с повышенной экспрессией генов.

**Ключевые слова:** *Pseudomonas aeruginosa*, гены *pvc*, секвенирование, чувствительность к антибиотикам, КПЦР в реальном времени (RT-qPCR), повторяющаяся межгенная консенсусная ПЦР энтеробактерий (ERIC-PCR)

---

## ■ INTRODUCTION

*Pseudomonas aeruginosa* is a Gram-negative, rod shaped bacterium belonging to the family Pseudomonadaceae and is recognized as an opportunistic human pathogen capable of causing a wide spectrum of infections involving the bloodstream, skin, respiratory tract, and urinary tract [1, 2]. These infections may be acute or chronic and occur predominantly in immunocompromised patients, posing a major clinical challenge due to the organism's pronounced antibiotic resistance and virulence potential [3]. The pathogenicity of *P. aeruginosa* is mediated by numerous virulence factors, including lipopolysaccharide, outer membrane proteins, flagella, pili, and exopolysaccharides, which facilitate adhesion, immune evasion, and biofilm formation. In addition, the bacterium secretes a variety of effectors through specialized secretion systems [4, 5]. Biofilm formation represents a key pathogenic strategy, as it enhances bacterial adherence and confers protection against antimicrobial agents and host immune responses, thereby contributing to chronic and difficult to treat infections [6, 7]. Moreover, *P. aeruginosa* exhibits high genomic plasticity that enables rapid adaptation to diverse clinical environments and favors the emergence of high risk antibiotic-resistant clones, a capacity supported by its large genome of approximately 6.3 Mb [8]. Operons represent a major gene regulatory mechanism in prokaryotes, allowing coordinated gene expression and efficient metabolic adaptation, with nearly half of bacterial protein coding genes organized in multigene operons [9]. The *pvcABCD* operon in *P. aeruginosa* consists of four genes clustered between 2,482,045 and 2,486,118 bp on the (PAO1) chromosome and was initially associated with pyoverdine chromophore biosynthesis [10–12]. Later studies demonstrated that this operon has broader metabolic roles, as *PvcA* and *PvcB* catalyze key reactions leading to the production of the secondary metabolite paerucumarin, with *PvcC* and *PvcD* completing the biosynthetic pathway [13, 14]. The instability of isonitrile containing metabolites and variability among *pvc* clusters explain earlier difficulties in detecting paerucumarin [13], operon expression is negatively regulated by iron and positively controlled by *PvdS* and the transcriptional regulator *PtxR* [10]. Furthermore, local gene expression studies revealed a strong association between *pvcABCD* expression and biofilm formation, where *pvcA* and *pvcB* are up-regulated in biofilm producing isolates, whereas *pvcC* and *pvcD* are down-regulated, supporting both enhanced adhesion and the presence of two distinct operons within this gene cluster [11, 15].



## ■ PURPOSE OF THE STUDY

To evaluate genetic diversity with the gene expression of the *pvcABCD* operon in clinical *P. aeruginosa* isolates obtained in Baghdad, Iraq.

## ■ MATERIALS AND METHODS

### **Sample Collection**

A total of 137 clinical samples were collected from various age groups and sexes, including (48 burn swabs, 40 wound swabs, 22 diabetic foot ulcers, and 27 urine) samples, between November 2024 and February 2025.

### **Bacterial Isolates Identification**

Molecular identification of the bacterial isolates was performed using the 16S rRNA and *gyrB* genes, which were considered reliable diagnostic genes for confirming the identity of *P. aeruginosa*. Out of 137 clinical swabs collected, PCR results confirmed 26 isolates as belonging to *P. aeruginosa*, genomic DNA was extracted by using the EasyPure® Bacteria Genomic DNA Kit (TransGen Biotech, China), according to the manufacturer's instructions. The bacterial cultures were grown overnight, harvested by centrifugation, and the resulting pellets were processed for DNA purification and elution as described in the kit protocol.

Conventional PCR amplification was carried out using specific primers targeting the 16S rRNA and *gyrB* genes in the table 1. Each 25 µL reaction mixture contained 12.5 µL of 2× EasyTaq® PCR SuperMix, 1 µL of each primer (10 pmol), 3 µL of DNA template, and 7.5 µL of nuclease-free water. PCR cycling program was optimized as follows: an initial denaturation at 94 °C for 1–9 minutes, followed by 40 cycles of denaturation at 94 °C for 30 seconds, annealing at 63 °C for 30 seconds, and extension at 72 °C for 30 seconds. A final extension step was carried out at 72 °C for 5–15 minutes to ensure complete elongation of all amplicons. PCR products were subsequently separated by agarose gel electrophoresis and visualized to confirm the presence of the expected amplification bands for the 16S rRNA and *gyrB* genes.

### **Checking for Antibiotic Resistance**

We used the Kirby – Bauer disc diffusion method to ascertain if they were resistant to antibiotics [16]. say that this was done in line with the rules specified by the Clinical and Laboratory Standards Institute [17]. We collected some colonies from a culture that had been growing overnight and put them in 2 cc of saline solution. This lowered the concentration to the 0.5 McFarland standard. A sterile cotton swab was used to evenly spread the bacterial suspension across the surfaces of all the Mueller – Hinton agar plates in three directions (about 60° each time) to make sure that all of them were infected. The dishes were left out at room temperature for 30 minutes to soak up any extra moisture. After that, sterile forceps were used to put antibiotic discs on the agar surface. The plates were then stored at 37 °C for 24 hours. We used a ruler to measure the diameter of the inhibitory zones surrounding each disc. Then we put the isolates into three groups: susceptible, intermediate, or resistant.

### Primers Design

The primers used in this study are listed in Table 1. All primers were synthesized in lyophilized form by Macrogen (Korea). Upon arrival, they were spun down and dissolved in DNase- and RNase-free water according to the manufacturer's instructions to prepare a stock solution (100  $\mu$ M). A working solution (10  $\mu$ M) was then prepared by diluting 10  $\mu$ L of the stock solution in 90  $\mu$ L of nuclease-free water. Both stock and working solutions were gently mixed and stored at  $-23^{\circ}\text{C}$  until use.

### RT-qPCR Quantification of Pvc Operon Genes

The expression levels of the *pvcA*, *pvcB*, *pvcC*, and *pvcD* genes belonging to the *pvcABCD* operon, along with the housekeeping gene *rpoD*, were evaluated in *P. aeruginosa* clinical isolates using real-time quantitative PCR (RT-qPCR). Total RNA was extracted from the bacterial pellets using the TransZol Up Plus RNA Extraction Kit (TransGen Biotech, China) following the manufacturer's recommendations. To avoid genomic DNA contamination, the extracted RNA was treated with DNase enzyme and immediately stored at  $-20^{\circ}\text{C}$

**Table 1**  
A list of primers used during this study

Primers	Primer sequence (5'-3')	Annealing, T <sub>m</sub> (°C)	Templet length, bp	Reference
<b>Housekeeping primers</b>				
<i>rpoD</i> RNA polymerase sigma factor	F-ACAAGATCCGCAAGGTAAGTAA R-ATCGCCAGGTGCGAAT	60	180	[18]
<b>RT-qPCR primers</b>				
<i>PvcA</i>	F-CCTGTGCTGTCGTTCTT R-CCTGGTAGGCGCTGATGT	59	143	[11]
<i>PvcB</i>	F-ATTCCTCCATCCTGCGTT R-CGTGCAACAGGGTCAGG	57	212	Second author
<i>PvcC</i>	F-AAGGCGATCCACGAGATG R-CGAAGAACAACAGCGA	56	187	Second author
<i>PvcD</i>	F-CCTCTCGGCCCTGCTT R-TCGGGTAGCTGCGGTTC	58	158	[11]
<b>Detection primers</b>				
16Sr RNA	F-GCACTTTAAGTTGGGAGGAA R-CTTTACGCCARTRAWTCCG	58	144	[19]
<i>Gyr B</i>	F-CCTGACCATCCGTCGCCACAAC R-CGCAGCAGGATGCCGACGCC	66	220	[20]
<b>Sequencing primers</b>				
<i>PvcA</i>	F-AGCGCATCCAGCTGTTCTAT R-ATCATGTGGATGCCGAAGTT	56	978	Second author
<i>PvcC</i>	F-GTCGCCAGGTCTACCTCAAC R-AGCGGATAGTCGAAGGGACT	58	1499	Second author
<b>ERIC-PCR primers</b>				
ERIC	F-CACTTAGGGGTCTCGAATGTA R-AAGTAAGTACTGGGTGAGCG	60	Variable	[21]



until use. The purified RNA was then reverse-transcribed into complementary DNA (cDNA) using the EasyScript® One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis Super Mix Kit (TransGen Biotech, China) according to the manufacturer's protocol. Each RT-qPCR reaction was prepared in a final volume of 20  $\mu$ L, consisting of 10  $\mu$ L of TransStart® Top Green qPCR Super Mix, 2  $\mu$ L of cDNA template, 2  $\mu$ L of primer mix (1  $\mu$ L forward + 1  $\mu$ L reverse), and 6  $\mu$ L of nuclease-free water.

The thermal profile consisted of an initial denaturation at 95 °C for 30 s, followed by 40 cycles of denaturation at 95 °C for 10 s, annealing at gene-specific temperatures (60 °C for pvcA, pvcB, pvcD, and rpoD; 56 °C for pvcC), and extension at 72 °C for 20 s. Each reaction was carried out in triplicate to ensure accuracy. The rpoD gene, encoding the RNA polymerase sigma factor, served as the internal control for normalization of gene expression levels. Relative expression for each target gene was calculated using the comparative  $\Delta\Delta$ Ct method, based on the mean cycle threshold (Ct) values of the target and reference genes.

### **Genotyping of *Pseudomonas aeruginosa* Isolates by ERIC-PCR Technique**

Genotyping of *P. aeruginosa* isolates was performed using ERIC-PCR to assess the genetic relationships among 19 clinical isolates. Amplification was performed using specific ERIC primers under defined amplification conditions. The PCR products were then separated by agarose gel electrophoresis and visualized under UV light. Banding patterns were scored as present or absent and analyzed using (UPGMA clustering) to generate dendrograms describing the genetic relationships among the isolates.

### **DNA Sequencing**

Sanger sequencing was carried out on the PCR-amplified fragments using an ABI3730XL automated DNA sequencer (Macrogen Corporation, Korea). The extracted DNA from 17 *P. aeruginosa* isolates was subjected to direct sequencing, and the obtained nucleotide sequences were analyzed and compared with reference sequences using BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) in the National Center for Biotechnology Information (NCBI) website ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)).

### **Analysis of Data**

Data analysis involved processing results from Rotor-Gene Q Series Software, including Ct value recording, amplification plots, dissociation curves, and consolidated reports. Gene expression was quantified using the  $\Delta$ Ct method by subtracting the Ct of the housekeeping gene from the target gene for both control and patient samples. The normalized expression ratio was calculated as  $2^{\Delta\Delta Ct}$ . The  $\Delta\Delta$ Ct method was then used to compare patient and control groups by subtracting the control  $\Delta$ Ct from the patient  $\Delta$ Ct, with relative fold change determined as  $2^{\Delta\Delta Ct}$ , reflecting gene expression changes normalized to the housekeeping gene and relative to controls.

### **Statistical Analysis**

ERIC-PCR data were analyzed using Dice and Jaccard coefficients, and clustered by the UPGMA method to generate dendrograms for genetic relatedness.

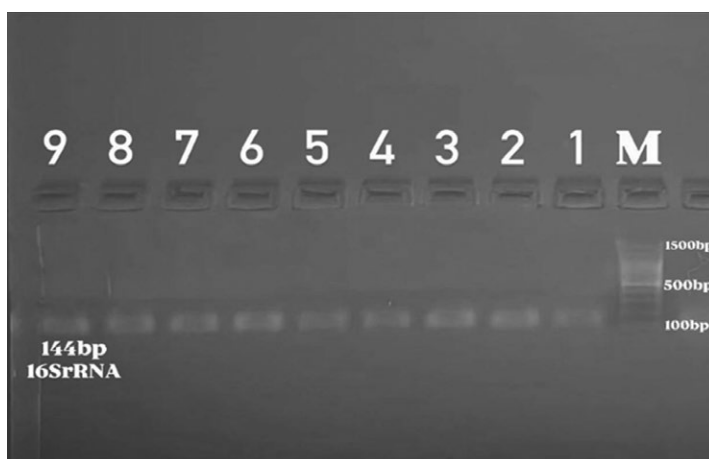
## ■ RESULTS

### Bacterial Isolates and Identification

The presence of 26 bacterial isolates was confirmed by Molecular detection was achieved using the 16S rRNA (144 bp) and *gyrB* (220 bp) genes, as in Figure 1, 2.

### Gene Expression Analysis

Expression levels of *pvcABCD* operon genes were assessed in (26) clinical isolates of *P. aeruginosa* using RT-qPCR and analyzed using the Livak method ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ), with *rpoD* serving as the internal reference gene for normalization. According to the standard criterion, genes with a fold change value greater than one ( $>1$ ) were considered up-regulated, while genes with a fold change value less than one ( $<1$ ) were considered down-regulated [22]. The *pvcABCD* operon showed a differential gene expression pattern, with *pvcA* expression decreasing to (0.49), while *pvc B*, *pvcC*, and *pvcD*



**Fig. 1. Amplified 16S rRNA products of *P. aeruginosa* isolates. Electrophoresed on 1% agarose for 60 min at 70 volt. The product size was 144 bp. M: DNA Ladder (100 bp)**



**Fig. 2. Amplified Gyr B products of *P. aeruginosa* isolates. Electrophoresed on 1% agarose for 60 min at 70 volt. The product size was 220 bp. M: DNA Ladder (100 bp)**



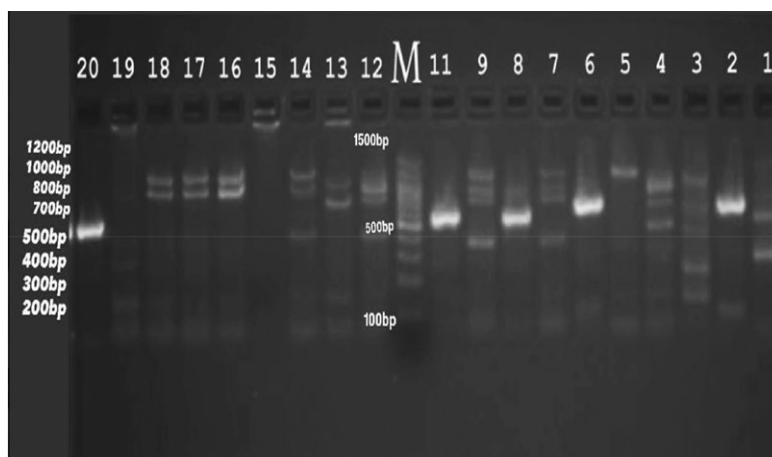
**Table 2**  
**Fold of pvcABCD expression depending on  $2^{-\Delta\Delta ct}$  method**

Study group	Mean of pvc ct	Mean of ct rPOD	Mean of $\Delta ct$	Mean $\Delta\Delta ct$	Mean $2^{-\Delta\Delta ct}$	Fold of gene expression
PvcA	28.38	23.14	5.24	-1.87	13.71	0.49
PvcB	22.82	23.14	-0.32	0.28	2.42	2.44
PvcC	27.15	23.14	4.01	-0.17	6.10	5.49
PvcD	26.44	23.14	3.30	-0.64	3.18	3.08

expression increased to 2.44, 5.49, and 3.08, respectively, particularly the pvcC and pvcD genes, as shown in Table 2.

### ERIC-PCR Genotypes and Antibiotic Resistance Patterns

ERIC-PCR analysis of 19 clinical *P. aeruginosa* isolates revealed considerable genetic diversity, as indicated by distinct banding patterns on agarose gels Figure 3. Cluster analysis using UPGMA generated a dendrogram showing several genetic clusters at intermediate dissimilarity levels ( $\approx 25$ – $30$  units), alongside genetically distinct isolates Figure 4. Notably, certain clustered isolates exhibited similar antibiotic resistance profiles. Isolates 2 and 5 clustered at a distance of  $\approx 14$  and shared resistance to (TCC, IPM, CAZ), while isolates 20 and 12 clustered at  $\approx 17$  and showed multidrug resistance to (TCC, IPM, CAZ, PRL, ATM, AK). Similarly, isolates 17 and 14 clustered at  $\approx 19$  with comparable resistance patterns. ERIC-PCR analysis also showed genetic similarity between isolates 8 and 15 despite the difference in clinical source, with similarity in resistance patterns. In contrast, isolates 6 and 11 appeared as separate branches, indicating marked genetic divergence. These results demonstrate a relationship between ERIC-PCR genotypes and antibiotic resistance profiles among the studied isolates Table 3.



**Fig. 3.** ERIC-PCR banding patterns of *P. aeruginosa* isolates showing variability that reflects genetic diversity

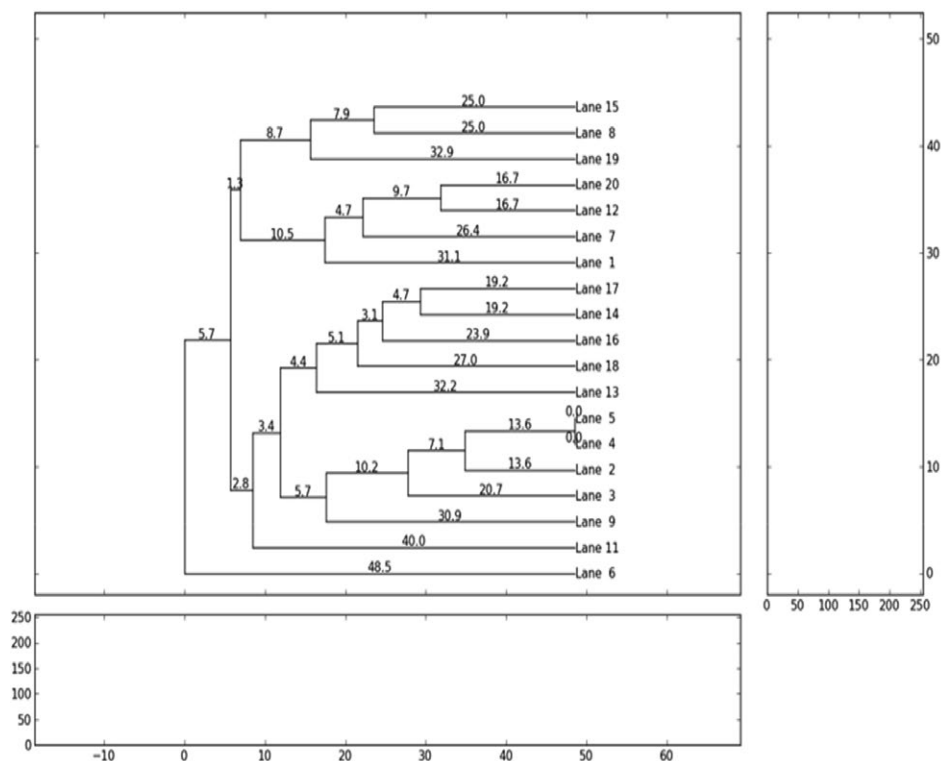


Fig. 4. ERIC-PCR dendrogram of 19 *P. aeruginosa* isolates

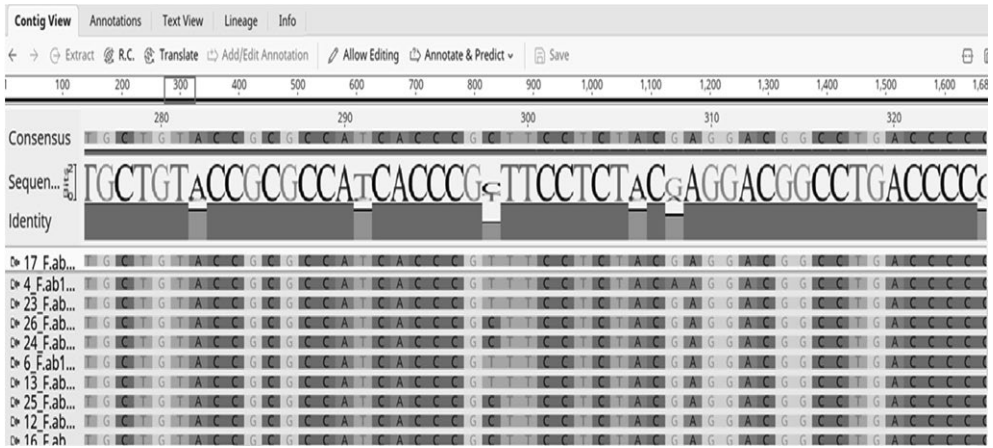
Table 3  
Genetic distance, source of isolation, and antibiotic resistance types of *P. aeruginosa*

No. Of isolate	Genetic Distance (≈)	Source	Antibiotic resistance type
2	≈14	burns	TCC, IPM, CAZ, LEV, PRL, ATM, AK
4		DFU	TCC, IPM, LEV, ATM
5		Burns	TCC, IPM, CAZ
8	≈25	Burns	TCC, IPM, LEV
15		DFU	TCC, IPM, CAZ, LEV, PRL, ATM
12	≈17	Burns	TCC, IPM, CAZ, LEV, PRL, ATM, AK
20		Burns	TCC, IPM, CAZ, PRL, ATM, AK
14	≈20	Burns	TCC, IPM, CAZ, LEV, PRL, ATM, AK
17		Burns	TCC, IPM, CAZ, LEV, ATM, AK

Notes: DFU – Diabetic Foot Ulcer; AK – Amikacin; ATM – Aztreonam; PRL – Piperacillin; CAZ – Ceftazidime; IPM – Imipenem; LEV – Levofloxacin; TCC – Ticarcillin / Clavulanic acid.

### DNA Sequencing with Gene Folding for the *PvcA* and *PvcC* Genes

This study integrated gene expression data with sequence analysis by selecting the *pvc A* and *pvcC* genes. sequence analysis was performed on 13 isolates for *pvcA* and



**Fig. 5. Alignment of the pvcA gene sequence of *P. aeruginosa* isolates with the reference strain A31628 (GenBank: CP166030.1) using Geneious Prime software**



**Fig. 6. Alignment of the pvcC gene sequence of *P. aeruginosa* isolates with the reference strain by using Geneious Prime software**

9 isolates for pvcC. The amplified products were subjected to Sanger sequencing, and the resulting sequences were compared with reference sequences deposited in the (NCBI) GenBank database to assess potential sequence variations in relation to gene expression patterns, as in Figures 5 and 6 and Tables 4 and 5.

## DISCUSSION

The 16S rRNA gene is considered the gold standard for bacterial identification because it is present in all bacteria and contains conserved and variable regions that enable genus-level discrimination using PCR [23, 24]. A previous study demonstrated the high efficiency of the 16S rRNA gene in identifying *P. aeruginosa* and distinguishing it from

**Table 4**  
**Sequence variation with gene folding for the pvcA gene**

No. Of sample	Fold pvcA	Type of substitution	Location	Nucleotide change	Codon change	Amino acid change	Predicted effect
1	21.41	Transversion	2482503	G→C	GCC→CCC	Alanine→Proline	Missense
14	17.88						
12	25.99	Transition	4004780	T→C	CGT→CGC	Arginine→Arginine	Silent
16	19.16						
24	36.76						
25	22.94		4004828	T→C	ACT→ACC	Threonine→Threonine	
26	29.65						
4	17.15						
6	16.22						
7	0.03						
13	11.39						
17	0.04						
23	27.47						

**Table 5**  
**Sequence variation with gene folding for the pvcC gene**

No. Of sample	fold pvcC	Sequence
2	0.16	
3	0.90	
4	1.00	
5	4.92	
6	43.71	
7	0.24	
9	2.93	
10	1.32	
1	6.11	Mutant

other *Pseudomonas* species, with most isolates yielding positive results [25, 26]. A local Iraqi study conducted in 2019 reported a high sensitivity of (96%) for the molecular detection of *P. aeruginosa* bacteria using the 16S rRNA gene [27]. In contrast, the *gyrB* gene exhibits greater sequence diversity than 16S rRNA, allowing more accurate species – level discrimination, particularly among closely related species [28–30]. Recent studies further confirmed that the combined use of 16S rRNA and *gyrB* genes provides high reliability for the molecular diagnosis of *P. aeruginosa* by PCR, as each gene complements the other in precise bacterial identification [31].

The *pvcABCD* operon is considered one of the major secondary metabolic pathways in *P. aeruginosa*, as it participates in the biosynthesis of paerucumarin through a sequential series of enzymatic reactions involving *PvcA*, *PvcB*, *PvcC*, and *PvcD* [13, 32]. Paerucumarin has been reported to play multiple roles associated with bacterial virulence, including enhancement of adhesion via regulation of cup genes, contribution to iron homeostasis, and indirect effects on antibiotic resistance mechanisms [11, 32, 33].



Local study has shown that increased expression of *pvcB* is associated with enhanced biofilm development and adaptation to clinical environments [15, 34]. Furthermore, suggest that the *pvcAB* and *pvcCD* gene clusters may be regulated as independent transcriptional units, which may explain the pronounced expression of *pvcC* and *pvcD* observed in clinical isolates [15].

The ERIC-PCR analysis revealed the presence of distinct genetic clusters among *P. aeruginosa* isolates, where genetic relatedness among certain isolates was accompanied by clear similarities in antibiotic resistance patterns, particularly among burn isolates, indicating the possible dissemination of epidemic strains within the same clinical environment [35]. In addition, clustering of isolates originating from different clinical sources within the same genetic group was observed, suggesting that some resistant strains are capable of spreading throughout the hospital environment rather than being confined to a single clinical source [36]. In contrast, several isolates appeared as genetically distant, independent branches, reflecting the high genetic diversity of this pathogen and the presence of distinct strains not linked to direct epidemiological transmission chains [37, 38]. The findings of this study are consistent with previous research demonstrating clear genetic relatedness among multidrug-resistant *P. aeruginosa* isolates, particularly those recovered from burns and wounds, indicating the circulation of epidemic strains within the same clinical environment [39]. Recent reports have further indicated that identical genotypes detected among isolates from different patients provide strong evidence of in hospital transmission through patients or healthcare associated environmental sources rather than random similarity [40, 41]. Hospital acquired outbreaks caused by multidrug-resistant *P. aeruginosa* therefore represent a serious epidemiological challenge, particularly in high-risk units such as burn wards, underscoring the importance of molecular surveillance to support infection control programs and identify transmission routes [9, 42, 43]. Although ERIC-PCR is a rapid, cost effective, and practical method for assessing genetic relatedness in molecular epidemiological studies, its limitations in discriminating closely related strains highlight the need to complement it with higher-resolution approaches, such as whole genome sequencing, for a more comprehensive interpretation of genetic diversity [44].

Gene sequencing and expression analyses of *pvcA* and *pvcC* in *P. aeruginosa* isolates revealed elevated transcript levels, particularly in isolates harboring the G→C mutation in *pvcA* at position 2,482,503, resulting in an Ala to Pro substitution predicted to affect protein folding. This pattern is consistent with stress induced mutagenesis models, in which environmental stress triggers transcriptional reprogramming that up-regulates survival related genes despite the presence of structurally detrimental mutations, serving as a compensatory mechanism to maintain pathway function [45–47]. Sequencing analysis identified recurrent silent mutations in the *pvcA* gene among five *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates, characterized by synonymous T→C substitutions that did not alter the encoded amino acids but were associated with marked up regulation of *pvcA*. This pattern supports evidence that silent mutations can influence gene expression through effects on mRNA structure, stability, and translation efficiency [48]. In contrast, isolates lacking mutations in *pvcA* or *pvcC* showed variable expression levels, reflecting the complex regulation of the *pvcABCD* operon by iron availability, regulatory factors such as *PvdS* and *PtxR*, and environmental stress signals, as well as intrinsic transcriptional and post transcriptional heterogeneity within bacterial operons [11, 15, 49].

## ■ CONCLUSION

Clinical *P. aeruginosa* isolates exhibited differential regulation of the pvcABCD operon, characterized by down-regulation of pvcA and up-regulation of pvcB, pvcC, and pvcD, reflecting transcriptional adaptation to clinical stress. Mutations in pvcA and pvcC were associated with increased gene expression, suggesting compensatory regulatory mechanisms, while ERIC-PCR analysis revealed genetic diversity with clustering of burn and diabetic foot ulcer isolates, supporting the possibility of hospital – acquired transmission of multidrug-resistant strains.

## ■ REFERENCES

- Ramatla T, Nkhebenyane J, Lekota KE, et al. Global prevalence and antibiotic resistance profiles of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* reported from 2014 to 2024: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Microbiology*. 2025;16:1599070.
- Wood SJ, Kuzel TM, Shafikhani SH. *Pseudomonas aeruginosa*: infections, animal modeling, and therapeutics. *Cells*. 2023;12(1):199.
- Letizia M, Diggle SP, Whiteley M. *Pseudomonas aeruginosa*: ecology, evolution, pathogenesis and antimicrobial susceptibility. *Nature Reviews Microbiology*. 2025;23(11):701–717.
- Alharbi MS, Moursi SA, Alshammari A, et al. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, resistance mechanisms, and novel therapeutic strategies. *Virulence*. 2025;16(1):2580160.
- Alzubaidy MWM, Almohaidi AMS, Sultan AA, Al-Shimmery SM. Virulence gene of *Pseudomonas aeruginosa* with nanoparticle. *AIP Conference Proceedings*. 2019;2123(1):020039.
- Tuon FF, Dantas LR, Suss PH, Tasca Ribeiro VS. Pathogenesis of the *Pseudomonas aeruginosa* biofilm: are view. *Pathogens*. 2022;11(3):300.
- Jamal TY, Aly MM, Mastaniah S. Bacterial biofilm formation by clinical isolates and their clinical impacts in chronic infections. *Journal of Research in Medical and Dental Science*. 2022;10(6):219–228.
- Flores-Vega VR, Partida-Sanchez S, Ares MA, et al. High-risk *Pseudomonas aeruginosa* clones harboring  $\beta$ -lactamases: 2024 update. *Heliyon*. 2025;11(1):e41540.
- Delroshan N, Ghandehari F, Mirzaei R, Hoveida L. Molecular typing of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates obtained from hospitalized burn patients by Rep-PCR. *Infection, Epidemiology and Microbiology*. 2023;9(2):99–106.
- Stintzi A, Johnson Z, Stonehouse M, et al. The pvc gene cluster of *Pseudomonas aeruginosa*: role in synthesis of the pyoverdine chromophore and regulation by PtxR and PvdS. *Journal of Bacteriology*. 1999;181(13):4118–4124.
- Qaisar U, Luo L, Haley CL, et al. The pvc operon regulates the expression of the *Pseudomonas aeruginosa* fimbrial chaperone/usher pathway (cup) genes. *PLoS One*. 2013;8(4):e62735.
- NCBI (2025) Genes: pvcABCD operon (*Pseudomonas aeruginosa* PAO1). National Center for Biotechnology Information.
- Drake EJ, Gulick AM. Three-dimensional structures of *Pseudomonas aeruginosa* PvcA and PvcB, two proteins involved in the synthesis of 2-isocyano-6,7-dihydroxycoumarin. *Journal of Molecular Biology*. 2008;384(1):193–205.
- Clarke-Pearson MF, Brady SF. Paerucumarin, a new metabolite produced by the pvc gene cluster from *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*. 2008;190(20):6927–6930.
- Ali N, Ahmed ST, Almohaidi AMS. Association of pvc genes expression with Biofilm formation in Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Baghdad Science Journal*. 2024; <https://doi.org/10.21123/bsj.2023.7823>.
- Hoelzer K, Cummings KJ, Warnick LD, et al. Agar disk diffusion and automated microbroth dilution produce similar antimicrobial susceptibility testing results for *Salmonella* serotypes Newport, Typhimurium, and 4,5,12:i:- but differ in economic cost. *Foodborne Pathogens and Disease*. 2011;8(12):1281–1288.
- CLSI (2024) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 34th edn. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Crabbé A, De Boever P, Van Houdt R, et al. Response of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 to low shear modelled microgravity involves AlgU regulation. *Environmental Microbiology*. 2008;10(10):2635–2644.
- Hillenbrand ME, Thompson PP, Shanks RMQ, Kowalski RP. Validation of PCR for the detection of *Pseudomonas aeruginosa* from corneal samples. *International Journal of Ophthalmology*. 2011;4(3):262–268.
- Anuj S, Whiley D, Kidd T, et al. Identification of *Pseudomonas aeruginosa* by a duplex real-time polymerase chain reaction assay targeting the *ecfX* and the *gyrB* genes. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2009;63(2):127–131.
- Wolska K, Szweda P, Lada K, et al. Motility activity, slime production, biofilm formation and genetic typing by ERIC-PCR for *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from bovine and other sources (human and environment). *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 2014;17(2):321–329.
- Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>- $\Delta\Delta C_T$</sup>  method. *Methods*. 2001;25(4):402–408.
- Al-Mozan HDK. Review: Gene of 16S rRNA is the gold standard to diagnose bacteria. *World Journal of Current Medical and Pharmaceutical Research*. 2023;5(4):139–148.
- Motoshima M, Yanagihara K, Fukushima K, Matsuda J. Rapid and accurate detection of *Pseudomonas aeruginosa* by real-time polymerase chain reaction with melting curve analysis targeting *gyrB* gene. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2007;58(1):53–58.
- Altaai ME, Aziz IH, Marhoon AA. Identification of *Pseudomonas aeruginosa* by 16S rRNA gene for differentiation from other *Pseudomonas* species isolated from patients and environment. *Baghdad Science Journal*. 2014;11(2):Article 107.
- Mohammed DB, Hasan AH. Molecular identification and antibiotic resistance profile of some *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *UHD Journal of Science and Technology*. 2025;9(2):92–100.
- Almohaidi AMS, Al-Shimmery SM. Accurate detection of *Pseudomonas aeruginosa* by using specific genes. *Biochemical and Cellular Archives*. 2019;19(Suppl. 1):2121–2126.



28. Hassan KI, Abdullah SR. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* in clinical samples using PCR targeting *ETA* and *gyrB* genes. *Baghdad Science Journal*. 2018;15(4):401–405.
29. Al-Shimmary SM, Mohamed NS, Al-Qaysi SAS, Almohaidi AMS. Phylogeny analysis of *gyrB* gene and 16S rRNA genes of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Iraqi patients. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2021;14(5):2517–2521.
30. Wang LT, Lee FL, Tai CJ, Kasai H. Comparison of *gyrB* gene sequences, 16S rRNA gene sequences and DNA-DNA hybridization in the *Bacillus subtilis* group. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2007;57(Pt 8):1846–1850.
31. Jamaluddin IP, Musa SH, Ethica SN, et al. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* pus wound isolate using a polymerase chain reaction targeting 16S rRNA and *gyrB* genes: a case from Indonesia. *Narra J*. 2024;4(2):e774.
32. Iftikhar A, Asif A, Manzoor A, et al. Mutation in *pvcABCD* operon of *Pseudomonas aeruginosa* modulates MexEF-OprN efflux system and hence resistance to chloramphenicol and ciprofloxacin. *Microbial Pathogenesis*. 2020;149:104491.
33. Qaisar U, Kruczek CJ, Azeem M, et al. The *Pseudomonas aeruginosa* extracellular secondary metabolite, paerucumarin, chelates iron and is not localized to extracellular membrane vesicles. *Journal of Microbiology*. 2016;54(8):573–581.
34. Asif A, Iftikhar A, Hamood A, et al. Isonitrile-functionalized tyrosine modulates swarming motility and quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microb Pathog*. 2019;127:288–295.
35. Hamad BK, Mahmud MA. Molecular detection of *blaVIM* and *blaNDM* in multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* from cancer and burn patients in Erbil, Iraq. *Frontiers in Microbiology*. 2025;16:1672531.
36. Zarei O, Shokoohizadeh L, Hossainpour H, Alikhani MY. Molecular analysis of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical, environmental and cockroach sources by ERIC-PCR. *BMC Research Notes*. 2018;11(1):668.
37. Abdullah R, Falih A. Genotyping of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from different clinical samples by using ERIC method. *Diyala Journal for Pure Science*. 2019;15(2):107–117.
38. Aghazadeh M, Kafil HS, Ghotaslou R, et al. Prevalence of oxacillinase groups I, II and III in *Pseudomonas aeruginosa* isolates by polymerase chain reaction and genotyping by ERIC-PCR methods. *Jundishapur J Microbiol*. 2016;9(12):e38129.
39. Khosravi AD, Hoveizavi H, Mohammadian A, et al. Genotyping of multidrug-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn and wound infections by ERIC-PCR. *Acta Cirurgica Brasileira*. 2016;31(3):206–211.
40. Elahi G, Goli HR, Shafiei M, et al. Antimicrobial resistance, virulence gene profiling, and genetic diversity of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Mazandaran, Iran. *BMC Microbiology*. 2024;24(1):546.
41. González-Olvera, E.M. et al. Antibiotic resistance, virulence factors and genotyping of *Pseudomonas aeruginosa* in public hospitals of northeastern Mexico. *Journal of Infection in Developing Countries*. 2019;13(5):374–383.
42. Pourakbari B, Movahedi Z, Mahmoudi S, et al. Genotypic characteristics of *Pseudomonas aeruginosa* strains circulating in the tertiary referral Children's Medical Hospital in Tehran, Iran. *British Journal of Biomedical Science*. 2012;69(4):169–172.
43. Chudejova K, Sourenian T, Finianos M, et al. Clonal outbreak of an extensively drug-resistant NDM-1 producing *Pseudomonas aeruginosa* in a local hospital in the Czech Republic. *Microbiology Spectrum*. 2026;14:e02581–25.
44. Aljindan R, Alsamman K, Elhadi N. ERIC-PCR genotyping of *Acinetobacter baumannii* isolated from different clinical specimens. *Saudi Journal of Medicine & Medical Sciences*. 2018;6(1):13–17.
45. Foster PL. Stress-induced mutagenesis in bacteria. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*. 2007;42(5):373–397.
46. Galhardo RS, Hastings PJ, Rosenberg SM. Mutation as a stress response and the regulation of evolvability. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*. 2007;42(5):399–435.
47. Zhang Z, Kukita C, Humayun MZ, Saier MH. Environment-directed activation of the *Escherichia coli* *flhDC* operon by transposons. *Microbiology (Reading)*. 2017;163(4):554–569.
48. Kudla G, Murray AW, Tollervey D, Plotkin JB. Coding-sequence determinants of gene expression in *Escherichia coli*. *Science*. 2009;324(5924):255–258.
49. Conway T, Creecy JP, Maddox SM, et al. Unprecedented high-resolution view of bacterial operon architecture revealed by RNA sequencing. *mBio*. 2014;5(4):e01442–14.



Прокопьева М.В.<sup>1</sup>✉, Ахмадуллина Ю.А.<sup>2</sup>, Корноухова Л.А.<sup>3</sup>, Салыхова Р.М.<sup>2</sup>,  
Гильманов А.Ж.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Республиканская детская клиническая больница, Уфа, Россия

<sup>2</sup> Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия

<sup>3</sup> Ленинградская областная клиническая больница, Санкт-Петербург, Россия

## Клинический случай тотального эмпериполеза в педиатрической практике

**Конфликт интересов:** не заявлен.

**Вклад авторов:** Прокопьева М.В. – вклад в замысел, написание текста; Ахмадуллина Ю.А., Корноухова Л.А., Салыхова Р.М., Гильманов А.Ж. – редактирование, подготовка текста, интерпретация данных, одобрение финального варианта.

**Информированное согласие:** авторы имеют подписанное информированное согласие законных представителей пациента на анонимное опубликование его данных в медицинском издании.

**Финансирование:** инициативный проект.

Подана: 09.09.2025

Принята: 25.02.2026

Контакты: marina\_garlik@mail.ru

### Резюме

**Введение.** Эмпериполез – это редкий феномен, связанный с наличием интактной клетки в цитоплазме другой, обусловленный патологическими и физиологическими факторами. Этиология этого явления до конца не изучена, так же как и его роль. В данной статье представлены морфологические особенности клеток костного мозга у ребенка со слабым иммунитетом, проявляющиеся в обнаружении высокого процента мегакариоцитов с эмпериполезом.

**Цель.** Продемонстрировать редкую цитологическую картину в пунктате костного мозга, проанализировать и оценить процент мегакариоцитов, пораженных эмпериполезом, задуматься о возможных причинах данного события.

**Материалы и методы.** Изучены препараты, приготовленные из пунктата костного мозга, взятого из 2 позиций (передних верхних остей подвздошных костей справа и слева) у ребенка 2 лет, с рождения страдающего от частых инфекционных заболеваний.

**Результаты.** При исследовании мазков костного мозга выявлен сохраненный мегакариоцитарный росток, эпатированный на 82% эмпериполезом.

**Заключение.** На фоне иммунологических дисфункций, вызванных воздействием различных вирусов и предрасположенностью к частым инфекциям, возникает феномен «клетка-в-клетке».

**Ключевые слова:** эмпериполез, мегакариоциты, ослабленный иммунитет, дети, феномен «клетка-в-клетке»



Prokopieva M.<sup>1</sup>✉, Akhmadullina Yu.<sup>2</sup>, Kornoukhova L.<sup>3</sup>, Salyakhova R.<sup>2</sup>, Gilmanov A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Republican Children's Clinical Hospital, Ufa, Russia

<sup>2</sup> Bashkir State Medical University, Ufa, Russia

<sup>3</sup> Leningrad Regional Clinical Hospital, St. Petersburg, Russia

## Total Emperipolysis in Pediatric Practice: A Case Report

**Conflict of interest:** nothing to declare.

**Authors' contribution:** Prokopieva M. – contribution to the concept, text writing; Akhmadullina Yu., Kornoukhova L., Salyakhova R., Gilmanov A. – editing, text drafting, data interpreting, and approval of the final version.

**Informed consent:** the authors obtained a signed informed consent from the patient's legal representatives for nonymous publication of his data in a medical journal.

**Funding:** self-initiated project.

Submitted: 09.09.2025

Accepted: 25.02.2026

Contacts: marina\_garlik@mail.ru

### Abstract

**Introduction.** Emperipolysis is a rare phenomenon associated with the presence of an intact cell within the cytoplasm of another, caused by pathological and physiological factors. The etiology of this phenomenon, as well as its role, remains unclear. This article presents the morphological features of bone marrow cells in a child with a weakened immune system, manifested by the detection of a high percentage of megakaryocytes with emperipolysis.

**Purpose.** To demonstrate a rare cytological pattern in bone marrow aspirate, analyze and assess the percentage of megakaryocytes affected by emperipolysis, and explore possible causes of this condition.

**Materials and methods.** We studied preparations from bone marrow aspirates collected from two sites (right and left anterior superior iliac spines) in a 2-year-old child with a history of frequent infectious diseases.

**Results.** Bone marrow smear analysis revealed a preserved megakaryocytic lineage, 82% effaced by emperipolysis.

**Conclusion.** A "cell-in-cell" phenomenon occurs against the background of immunological dysfunctions caused by exposure to various viruses and a predisposition to frequent infections.

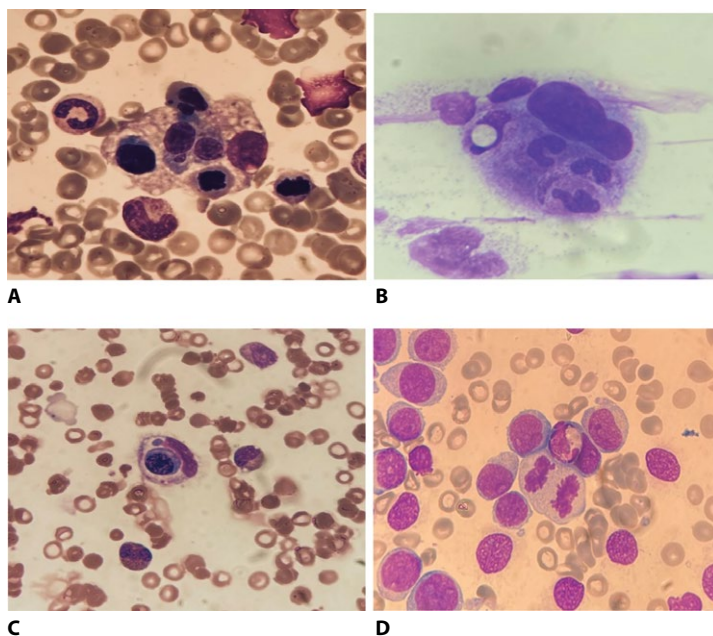
**Keywords:** emperipolysis, megakaryocytes, weakened immunity, children, "cell-in-cell" phenomenon

### ■ ВВЕДЕНИЕ

Первое упоминание о феномене «клетка-в-клетке» относится к 1862 г. Он характеризуется поглощением одной или нескольких клеток цитоплазмой другой клетки – так называемой клетки-хозяина. Существует несколько подобных явлений. К ним относят фагоцитоз, эмпериполез, энтоз, клеточный каннибализм [1, 2]. Для того чтобы понять суть и отличия приведенных терминов, достаточно обратиться к трактовке этих понятий.

Фагоцитоз – это способность определенных клеток удерживать и переваривать плотные частицы, а также целые клетки, в результате чего клетка-гость погибает под действием лизосомальных ферментов (рис. 1А). При эмпериполезе поглощенная клетка остается структурно и функционально невредимой внутри другой и может выйти из нее в любое время (рис. 1В). Существует также термин «периполис», представляющий собой прикрепление одной клетки к другой. С понятием «энтоз» ассоциируется явление, при котором наблюдается внутриклеточное вторжение и гибель клеток; при этом захваченная клетка изначально жива и может делиться и даже иногда высвобождаться клеткой-хозяином, но чаще в конечном итоге погибает (рис. 1С). Считается, что он связан с возможным канцерогенезом и прогрессированием опухоли [2]. Клеточный каннибализм встречается исключительно при патологических состояниях, характеризующихся поглощением одной опухолевой клетки другой [3]. Поэтому важно различать данные процессы.

Термин «эмпериполез» был предложен в 1956 г. Хамблом. А само явление было описано Фишером и Дольшанским в 1929 г. [4]. В отличие от других типов поглощения, его рассматривают как своего рода клеточный симбиоз [1]. Точная каузальность эмпериполеза неизвестна, но для объяснения этого феномена выдвинута теория участия пути лизосомальной деградации, стимулированной провоспалительными



**Рис. 1. Костный мозг. Феномен «клетка-в-клетке»: А – фагоцитоз. Увеличение  $\times 1000$ ; В – эмпериполез. Увеличение  $\times 1000$ ; С – энтоз. Увеличение  $\times 1000$ ; D – клеточный каннибализм при остром миелоидном лейкозе. Увеличение  $\times 1000$**   
**Fig. 1. Bone marrow. The "cell-in-a-cell" phenomenon: A – phagocytosis. Magnification  $\times 1000$ ; B – emperipolesis. Magnification  $\times 1000$ ; C – entosis. Magnification  $\times 1000$ ; D – cellular cannibalism in acute myeloid leukemia. Magnification  $\times 1000$**



цитокинами и опосредованной естественными киллерами [1, 3]. Эмпериполез подразделяют на 2 типа: гомотипический и гетеротипический, в зависимости от вида поглощенной клетки-мишени: либо аналогичной, либо иной. К клеткам-ловушкам чаще относят мегакариоциты и гистиоциты, реже – опухолевые клетки. В эмпериполезе в качестве захваченных клеток выступают миелоидные клетки, нейтрофилы, эритробласты, лимфоциты, плазматические клетки [3]. Существует 2 вида данного феномена: гистиоцитарный эмпериполез, при котором макрофаги захватывают лимфоидные клетки, и мегакариоцитарный эмпериполез, характеризующийся поглощением гемопоэтических клеток клетками – предшественниками тромбоцитов. Поглощение клеток гистиоцитами наблюдается при болезни Розаи – Дорфмана, что является отличительной чертой данного заболевания, а также при аутоиммунном гепатите [5, 6]. По времени прохождения поглощенной клетки также выделяют быстрый (до 10 мин) и медленный (до 60 мин) эмпериполез, что предполагает наличие различных физиологических функций [7].

Мегакариоцитарный эмпериполез – довольно редкое явление, напрямую связанное с миссией мегакариоцитов (МЦ). До настоящего времени считалось, что основная функция МЦ – производство тромбоцитов, но последние данные свидетельствуют в пользу того, что они являются активными участниками адаптивного иммунитета [8–10]. В результате исследований, полученных с помощью секвенирования отдельных клеток у мышей и независимо от факта наличия общих маркеров, доказано существование различных типов зрелых мегакариоцитов: МЦ, продуцирующие тромбоциты, поддерживающие нишу и иммунные мегакариоциты. К сожалению, механизмы, определяющие функциональный профиль субпопуляций предшественников тромбоцитов, остаются в значительной степени неизученными [11, 12].

Захват гемопоэтических клеток в костном мозге мегакариоцитами наблюдается при заболеваниях органов системы крови: неходжкинской и ходжкинской лимфомах, при различных видах острых лейкозов и связанной с ними терапии, хроническом лимфолейкозе, хроническом миелоидном лейкозе, миелодиспластическом синдроме, железodefицитной анемии, хронической нейтропении, идиопатической тромбоцитопенической пурпуре, кровотечениях и даже во время введения рекомбинантного человеческого гранулоцитарного колониестимулирующего фактора [12–19].

## ■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Продемонстрировать редкую цитологическую картину в пунктате костного мозга, проанализировать и оценить процент мегакариоцитов, пораженных эмпериполезом, задуматься о возможных причинах данного события.

## ■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследованию подлежали препараты, приготовленные из пунктата костного мозга, взятого из 2 позиций – передних верхних остей подвздошных костей справа и слева у ребенка 2 лет, с рождения страдающего от частых инфекционных заболеваний.

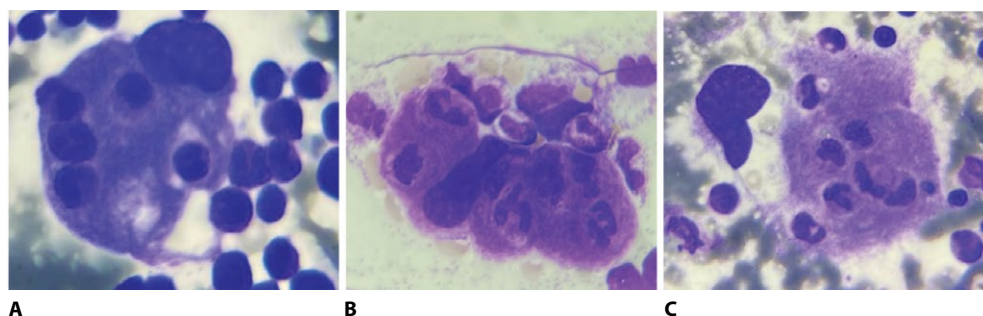
## ■ РЕЗУЛЬТАТЫ

В иммунологическое отделение Республиканского центра детской онкологии и гематологии Республиканской детской клинической больницы на плановое обследование поступил ребенок 2 лет с жалобами на частые инфекционные заболевания. В анамнезе ларинготрахеиты, обструктивный бронхит, фарингит, отит. Болеет круглогодично, до 2 недель. При постановке общего анализа крови выявлена изолированная нейтропения до  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ ; в ходе молекулярно-биологического исследования обнаружен вирус Эпштейна – Барр в большом количестве, констатировано носительство цитомегаловируса и вируса простого герпеса. Другие методы исследования, в том числе инструментальные, патологии не выявили, за исключением открытого овального окна. Выставлен предварительный диагноз «агранулоцитоз».

С целью углубленного исследования выполнена костномозговая пункция. При микроскопии костного мозга обратила на себя внимание повышенная клеточность материала за счет расширения гранулоцитарного ростка, при этом дифференцировка и созревание нейтрофилов не нарушены, эритроидный росток сохранен, мегакариоцитарная фракция слегка расширена. Мегакариоциты располагаются как одиночно, так и небольшими кластерами, чаще встречаются зрелые их формы (оксифильные), реже – голаядерные и обрывки цитоплазмы. Во всех клетках данного ряда, за исключением промегакариоцитов, визуализируются поглощенные гранулоциты: от 1 клетки до 14 (рис. 2). Количество пораженных эмпериполезом мегакариоцитов составило 82%. Среди поглощенных зрелых форм нейтрофилов более часто встречаются сегментоядерные и палочкоядерные, реже – юные и миелоциты.

## ■ ОБСУЖДЕНИЕ

Представленное в статье наблюдение демонстрирует редчайшую цитологическую картину описанной патологии. Различные патогены при взаимодействии с мегакариоцитами могут модифицировать их функцию, пролиферацию, созревание и апоптоз. Мегакариоциты, в свою очередь, координируют развитие и выход нейтрофилов из костного мозга путем продукции и секреции цитокинов и хемокинов, тем самым являясь иммунными защитниками [20]. Возможно, что эмпериполез является защитной реакцией МЦ в ответ на воздействие инфекций. Такое явление может протекать с гиперплазией гранулоцитарного ростка [1]. Необходимы дальнейшие углубленные исследования данного феномена, в том числе с использованием молекулярного анализа. Но из-за редкости случаев встречаемости заболевания ключевой физиологический механизм возникновения эмпериполеза до сих пор остается загадкой для науки. Стоит задуматься о причинах, способных вызвать данный процесс. Вероятнее всего то, что они связаны с иммунологическим запуском ответа на внедрение антигена в организм ребенка. Поступивший в клинику пациент нуждается в тщательном дополнительном обследовании в иммунологическом отделении для исключения первичного иммунодефицита и постоянном мониторинге в течение нескольких лет, ведь хроническая нейтропения может привести и к тяжелым последствиям, вплоть до летального исхода.



**Рис. 2. Костный мозг. Мегакариоциты: А – полихроматофильный мегакариоцит с эмпериполозом. Увеличение ×1000; В – оксифильный мегакариоцит с поглощенными сегментоядерными нейтрофилами. Увеличение ×1000; С – обрывки цитоплазмы мегакариоцита с поглощенными в ней гранулоцитами. Увеличение ×1000**

**Fig. 2. Bone marrow. Megakaryocytes: А – polychromatophilic megakaryocyte with emperipolesis. Magnification ×1000; В – oxyphilic megakaryocyte with engulfed segmented neutrophils. Magnification ×1000; С – fragments of megakaryocyte cytoplasm with engulfed granulocytes. Magnification ×1000**

## ■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На возникновение явления эмпериполоза в мегакариоцитах костного мозга оказывают влияние иммунологические нарушения, происходящие на фоне вирусных инфекций, таких как вирус Эпштейна – Барр, цитомегаловирус и вирус простого герпеса. Таким образом, функциональная особенность мегакариоцитов может открыть новые терапевтические подходы в будущем.

## ■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Suljević, Damir, Filipić, Filip and Islamagić, Erna. Emperipolesis: Sternal and femoral microenvironment induces megakaryocyte emperipolesis in the Wistar strain. *Macedonian Veterinary Review*. 2019;42(1):71–77. doi: 10.2478\_macvetrev\_2019\_0012
2. Gaptulbarova KA, Tsydenova IA, Dolgasheva DS, Kravtsova EA, Ibragimova MK, Vtorushin SV, Litviakov NV. Mechanisms and significance of entosis for tumour growth and progression. *Cell Death Discov*. 2024 Mar 1;10(1):109. PMID: 38429285; PMCID: PMC10907354. doi: 10.1038/s41420-024-01877-9
3. Gupta, Nidhi; Jadhav, Kiran; Shah, Vandana. Emperipolesis, entosis and cell cannibalism: Demystifying the cloud. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*. 2017 Jan–Apr;21(1):92–98. doi: 10.4103/0973-029X.203763
4. Dehghan S, Kheshtchin N, Hassannezhad S, Soleimani M. Cell death classification: A new insight based on molecular mechanisms. *Exp Cell Res*. 2023 Dec 15;433(2):113860. Epub 2023 Nov 26. PMID: 38013091. doi: 10.1016/j.yexcr.2023.113860
5. Covelli C, Sacchi D, Sarcognato S, Cazzagon N, Grillo F, Baciocchi F, Fanni D, Cacciatore M, Maffei V, Guido M. Pathology of autoimmune hepatitis. *Pathologica*. 2021 Jun;113(3):185–193. PMID: 34294936; PMCID: PMC8299324. doi: 10.32074/1591-951X-241
6. Demicco EG, Rosenberg AE, Björnsson J, Rybak LD, Unni KK, Nielsen GP. Primary Rosai-Dorfman disease of bone: a clinicopathologic study of 15 cases. *Am J Surg Pathol*. 2010 Sep;34(9):1324–33. PMID: 20679880. doi: 10.1097/PAS.0b013e3181ea50b2
7. Huang FY, Cunin P, Radtke FA, et al. Neutrophil transit time and localization within the megakaryocyte define morphologically distinct forms of emperipolesis. *Blood Advances*. 2022 Apr;6(7):2081–2091. doi: 10.1182/bloodadvances.2021005097
8. Wong RSY, Cheong SK. Beyond platelet production: Megakaryocytes' emerging roles in immunity and infection. *Malays J Pathol*. 2024 Dec;46(3):343–354. PMID: 39731484. doi: 10.1007/978-3-319-39562-3\_16
9. Marcoux, G., Laroche, A., Espinoza Romero, J., & Boillard, E. (2021). Role of platelets and megakaryocytes in adaptive immunity. *Platelets*. 2020;32(3):340–351. doi: 10.1080/09537104.2020.1786043
10. Du C, Chen J, Wang J. New insights into the generation and function of megakaryocytes in health and disease. *Haematologica*. 2025 Jul 1;110(7):1500–1512. Epub 2025 Mar 27. PMID: 40145277; PMCID: PMC12208170. doi: 10.3324/haematol.2024.287236
11. Sable MN, Sehgal K, Gadage VS, Subramanian PG, Gujral S. Megakaryocytic emperipolesis: a histological finding in myelodysplastic syndrome. *Indian J Pathol Microbiol*. 2009 Oct–Dec;52(4):599–600. PMID: 19805998. doi: 10.4103/0377-4929.56153
12. Akyay A. Hemophagocytosis in acute megakaryocytic leukemia: hemophagocytosis or emperipolesis? *J Pediatr Hematol Oncol*. 2013 Oct;35(7):578. PMID: 23823115. doi: 10.1097/MPH.0b013e31829f4072

13. Li Y, Chen K, Wang QF. Immunological face of megakaryocytes. *Frontiers of Medicine*. 2024 Dec;18(6):988–1001. doi: 10.1007/s11684-024-1087-1
14. Collinson RJ, Linden MD, Fuller KA, Wilson L, Mirzai B, Boey D, Ng ZY, Chuah HS, Malherbe JAJ, Howman R, Leahy MF, Sidiqi MH, Collins JH, Ouwehand WH, Erber WN, Guo BB. Megakaryocyte emperipolesis in myeloproliferative neoplasms: Are neutrophils friends or foes? *J Leukoc Biol*. 2025 Aug 5;117(8):qiaf093. PMID: 40561505. doi: 10.1093/jleuko/qiaf093
15. Lee S, Wong H, Castiglione M, Murphy M, Kaushansky K, Zhan H. JAK2V617F Mutant Megakaryocytes Contribute to Hematopoietic Aging in a Murine Model of Myeloproliferative Neoplasm. *Stem Cells*. 2022 Apr 29;40(4):359–370. doi: 10.1093/stmcls/sxac005
16. Cai W, Wu J, Jiang M. Acute myeloid leukemia myelodysplasia-related with primitive megakaryocyte emperipolesis. *Authorea Preprints*. 2024.
17. Paz Nuñez Y, Krawczyk J, Gurney M. Megakaryocyte emperipolesis in B-lymphoblastic leukaemia. *British Journal of Haematology*. 2020;188(3):348. doi: 10.1111/bjh.16277
18. Koujanian S, Chang H. Megakaryocytic emperipolesis in a therapy-related acute-mixed phenotypic leukemia. *Int J Lab Hematol*. 2022;44:694–695. doi: 10.1111/ijlh.13796
19. Aslan D, Yetgin S. Megakaryocyte emperipolesis in a child with chronic neutropenia: an unusual coexistence. *The Turkish Journal of Pediatrics*. 2001 Jul-Sep;43(3):255–256. PMID: 11592520.
20. Koupenova M, Livada AC, Morrell CN. Platelet and Megakaryocyte Roles in Innate and Adaptive Immunity. *Circ Res*. 2022 Jan 21;130(2):288–308. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.121.319821



<https://doi.org/10.34883/PI.2026.15.2.007>

УДК 616.12-008.318:615.222.06]:[616.002:612.398.12]:575.174.015.3



Колоцей Л.В.✉, Гладкий М.Л.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

## Полиморфизм генов провоспалительных цитокинов у пациентов с синдромом удлиненного интервала QT

**Конфликт интересов:** не заявлен.

**Вклад авторов:** концепция и дизайн исследования, сбор материала, обработка, написание текста, редактирование – Колоцей Л.В.; выполнение генотипирования, редактирование текста – Гладкий М.Л.

**Этическое заявление:** протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике Гродненского государственного медицинского университета.

**Финансирование:** исследование выполнено при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (договор № M24МП-038).

Подана: 26.08.2025

Принята: 16.03.2026

Контакты: lkolotsey@mail.ru

### Резюме

**Цель.** Установить ассоциации полиморфных вариантов С3872Т гена СРБ, G308А гена ФНО- $\alpha$  и G174С гена ИЛ-6 с развитием лекарственно-индуцированного синдрома удлиненного интервала QT (СУИ QT) у пациентов Гродненской области Республики Беларусь.

**Материалы и методы.** Обследованы 129 пациентов с нарушениями ритма сердца, принимавших антиаритмические препараты III класса (амиодарон либо соталол). В зависимости от наличия или отсутствия лекарственно-индуцированного СУИ QT, пациенты были разделены на 2 группы: QT+ (n=64) и QT- (n=65). Группу контроля составили обследованные 40 человек без анамнеза нарушений ритма сердца. Всем пациентам проводилось определение полиморфизмов С3872Т гена СРБ, G308А гена ФНО- $\alpha$  и G174С гена ИЛ-6 с применением полимеразной цепной реакции. Статистический анализ осуществлялся с использованием программы Statistica 12.0.

**Результаты.** Установлено, что в группе пациентов QT+ достоверно чаще встречались генотип GG полиморфизма G174С гена ИЛ-6 и генотип GA G308А гена ФНО- $\alpha$  по сравнению с другими группами пациентов ( $p < 0,05$ ). У пациентов с генотипами GA и AA по полиморфизму G308А гена ФНО- $\alpha$  были выявлены значимые различия ( $p < 0,05$ ) в ряде показателей, характеризующих продолжительность реполяризации миокарда (корригированные интервалы QT и JT), а также степень ее гетерогенности (дисперсия интервала QT) по сравнению с пациентами с генотипом GG. Присутствие в генотипе пациента рецессивной аллели А полиморфного варианта G308А гена ФНО- $\alpha$  было связано с увеличением риска развития лекарственно-индуцированного СУИ QT в 2,53 раза ( $p = 0,003$ ), присутствие аллели G полиморфизма G174С гена ИЛ-6 было ассоциировано с увеличением риска развития СУИ QT в 1,58 раза ( $p = 0,011$ ), а генотипа GG – с увеличением риска в 3,81 раза ( $p < 0,001$ ).

**Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о возможной вовлеченности системы генетического полиморфизма провоспалительных цитокинов (ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6) в регуляцию развития лекарственно-индуцированного СУИ QT. Предположительным

механизмом этой связи можно считать различную степень активации калиевых и кальциевых ионных каналов в ответ на взаимодействие с причинным лекарственным препаратом, зависящую в том числе от концентрации ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6 в крови пациента.

**Ключевые слова:** синдром удлинённого интервала QT, антиаритмические препараты III класса, С-реактивный белок, интерлейкин-6, фактор некроза опухоли-альфа, генетический полиморфизм

---

Kalatsei L.✉, Hladki M.

Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

## Polymorphism of Proinflammatory Cytokine Genes in Patients with Long QT Syndrome

**Conflict of interest:** nothing to declare.

**Authors' contribution:** study concept and design, material collection, processing, text writing, editing – Kalatsei L.; genotyping, editing – Hladki M.

**Ethics statement:** the study protocol was approved by the Biomedical Ethics Committee of the Grodno State Medical University.

**Funding:** the study was carried out with the financial support of the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (Scientific project № M24-МП-038).

Submitted: 26.08.2025

Accepted: 16.03.2026

Contacts: lkolotsey@mail.ru

### Abstract

---

**Purpose.** To establish associations of polymorphic variants C3872T of the CRP gene, G308A of the TNF- $\alpha$  gene and G174C of the IL-6 gene with drug-induced long QT syndrome (LQTS) in patients of the Grodno region of Republic of Belarus.

**Materials and methods.** A total of 129 patients with cardiac arrhythmias who received class III antiarrhythmic drugs were examined. Depending on the presence or absence of drug-induced LQTS, the patients were divided into 2 groups: QT+ (n=64) and QT- (n=65). The control group included 40 subjects with no history of cardiac arrhythmias. All patients underwent genotyping for C3872T CRP gene, G308A TNF- $\alpha$  gene and G174C IL-6 gene polymorphisms using polymerase chain reaction. A statistical analysis was performed using Statistica 12.0.

**Results.** It was found that in the QT+ group of patients, the GG genotype of the G174C IL-6 gene polymorphism and the GA genotype of the G308A TNF- $\alpha$  gene were significantly more common than in other groups of patients ( $p < 0.05$ ). In patients with the GA and AA genotypes, significant differences ( $p < 0.05$ ) were found in the G308A polymorphism of the TNF- $\alpha$  gene in a number of parameters characterizing the duration of myocardial repolarization (corrected QT and JT intervals), as well as the degree of its heterogeneity (QT interval dispersion) compared to patients with the GG genotype. The presence of the recessive allele A of the polymorphic variant G308A of the TNF- $\alpha$  gene in the patient's genotype was associated with an increase in the risk of drug-induced LQTS by 2.53 times ( $p = 0.003$ ), the presence of the allele G of the polymorphism G174C of the IL-6 gene was



associated with an increase in the risk of LQTS by 1.58 times ( $p=0.011$ ), and the presence of the GG genotype with an increase in the risk of LQTS by 3.81 times ( $p<0.001$ ).

**Conclusion.** The data obtained suggest that genetic polymorphisms system of pro-inflammatory cytokines (TNF- $\alpha$  and IL-6) may be involved in the regulation of drug-induced LQTS. A putative mechanism underlying this association may be varying degrees of activation of potassium and calcium ion channels in response to interaction with the causative drug, depending, among other factors, on TNF- $\alpha$  and IL-6 levels in patients' blood.

**Keywords:** long QT syndrome, class III antiarrhythmic drugs, C-reactive protein, interleukin 6, tumor necrosis factor alpha, genetic polymorphism

## ■ ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время сердечно-сосудистые заболевания чаще других приводят к смертности и инвалидности в большинстве стран мира. Главные причины смерти от сердечно-сосудистых заболеваний – прогрессирование хронической сердечной недостаточности (ХСН) (около половины всех летальных исходов) и внезапная сердечная смерть (ВСС) (другая половина) [1]. В подавляющем большинстве случаев (85%) механизмами развития ВСС являются желудочковые тахикардии: желудочковая тахикардия (ЖТ) и фибрилляция желудочков (ФЖ) с последующим развитием асистолии [2, 3].

Удлинение интервала QT считается общепринятым фактором риска и независимым предиктором развития жизнеугрожающих ЖТ и ВСС у пациентов как с наличием структурной патологии сердца, так и без нее [2, 4, 5]. Создавая функциональный субстрат для возникновения трансмурального механизма re-entry, удлинение интервала QT может инициировать развитие эпизодов полиморфной ЖТ, которая в 20% случаев трансформируется в ФЖ [4, 5]. Это обуславливает все возрастающий интерес к разнообразным аспектам синдрома удлиненного интервала QT (СУИ QT), методам его диагностики, лечения и стратификации риска у отдельных категорий пациентов.

Результаты разносторонних исследований позволяют предполагать, что в патологический процесс может быть вовлечена система маркеров воспаления, одним из эффектов которой является участие в регуляции желудочковой реполяризации [6–11]. В частности, многие экспериментальные исследования показали, что воспалительные цитокины (фактор некроза опухоли-альфа (ФНО- $\alpha$ ), интерлейкин-1 (ИЛ-1), интерлейкин-6 (ИЛ-6)) вызывают изменения в функционировании калиевых и кальциевых ионных каналов, что приводит к увеличению продолжительности потенциала действия кардиомиоцитов и, следовательно, удлинению интервала QT на поверхностной ЭКГ [9].

Индукцированный цитокинами аритмогенез представляет собой сложное взаимодействие структурного ремоделирования миокарда, электрофизиологических нарушений и экстракардиальных эффектов. Молекулярные механизмы, посредством которых цитокины способствуют развитию аритмий, многогранны и включают в себя различные сигнальные пути, влияющие как на электрические, так и на структурные свойства миокарда [6].

Один из наиболее хорошо изученных путей включает активацию ядерного фактора каппа В (NF-κB), ключевого фактора транскрипции, который регулирует экспрессию нескольких провоспалительных цитокинов, хемокинов и молекул адгезии. При активации цитокинами, такими как ФНО-α и ИЛ-1, NF-κB индуцирует экспрессию дополнительных воспалительных медиаторов, которые способствуют воспалению тканей и фиброзу [11]. В сердце длительная активация NF-κB приводит к накоплению компонентов внеклеточного матрикса, что вызывает фиброз миокарда. Фиброзное ремоделирование играет важную роль в аритмогенезе, поскольку оно нарушает нормальную проводимость в миокарде и способствует формированию циркулирующих цепей, которые имеют решающее значение для возникновения и персистенции аритмий. Фиброзная ткань нарушает распространение электрического сигнала, увеличивая вероятность эктопических сокращений и формирования аритмических очагов [12].

Помимо фиброза важную роль в цитокин-индуцированном аритмогенезе играет окислительный стресс [7]. Такие цитокины, как ФНО-α и ИЛ-6, запускают высвобождение активных форм кислорода в кардиомиоцитах. Кроме того, активные формы кислорода могут способствовать деградации белков щелевых контактов, таких как коннексины, которые необходимы для синхронизации электрических сигналов между кардиомиоцитами [13]. Разрушение щелевых контактов приводит к электрическому разобщению и является общепризнанным фактором, способствующим аритмогенезу, особенно при ФП и ЖТ [9, 11, 13].

Повышенный уровень СРБ, ФНО-α и ИЛ-6 может изменять экспрессию и активность ионных каналов, таких как потенциалзависимые натриевые (NaV) каналы, калиевые (K<sup>+</sup>) и кальциевые (Ca<sup>2+</sup>) каналы [7]. Вызванные цитокинами изменения функции ионных каналов могут укорачивать или удлинять потенциал действия, нарушать реполяризацию и повышать вероятность эктопической пейсмекерной активности. Так, в исследованиях *in vitro* было показано, что ФНО-α снижает экспрессию некоторых калиевых каналов, что приводит к удлинению потенциалов действия и повышению восприимчивости к аритмиям [10]. Кроме того, провоспалительные цитокины могут влиять на транспорт кальция в клетках миокарда, что еще больше повышает риск аритмических событий.

В совокупности эти данные позволяют предположить, что связь между воспалительными маркерами и ВСС может быть по крайней мере частично объяснена более высокой склонностью к развитию злокачественных аритмий, связанных с удлинением интервала QT, особенно полиморфной ЖТ.

Однако, несмотря на наличие большого количества исследований, проведенных на животных моделях, к настоящему времени клинических исследований, посвященных взаимосвязи между лекарственно-индуцированным СУИ QT, желудочковыми нарушениями ритма и полиморфизмами генов провоспалительных цитокинов, в доступной литературе не имеется, чем и обусловлена актуальность настоящего исследования.

## ■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Установить ассоциации полиморфных вариантов С3872Т гена СРБ, G308А гена ФНО-α и G174С гена ИЛ-6 с развитием лекарственно-индуцированного СУИ QT у пациентов Гродненской области Республики Беларусь.



## ■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось в Гродненском областном клиническом кардиологическом центре (Гродно, Беларусь) с марта 2023 года по январь 2025 года. Обследованы 129 пациентов (65 (50,4%) мужчин, 64 (49,6%) женщины в возрасте  $56,6 \pm 9,4$  года) с нарушениями ритма сердца, принимавших антиаритмические препараты (ААП) III класса (амиодарон либо соталол). В зависимости от наличия или отсутствия лекарственно-индуцированного СУИ QT, пациенты разделены на 2 группы: QT+ (n=64) и QT- (n=65). Группу контроля составили обследованные 40 человек без анамнеза нарушений ритма.

Критериями исключения из исследования были: прием любых ЛС, кроме ААП III класса (амиодарон или соталол), с подтвержденным либо вероятным риском ЖТ типа «пируэт»; прием ААП III класса на амбулаторном этапе (менее 1 месяца до госпитализации в стационар); недавно перенесенный острый инфаркт миокарда или аортокоронарное шунтирование (менее чем за 3 месяца до включения в исследование); гемодинамически значимое поражение коронарных артерий без эффективной реваскуляризации; увеличение продолжительности комплекса QRS  $\geq 100$  мс; постоянная и длительно персистирующая форма ФП; нарушения атриовентрикулярного проведения (АВ-блокада 2-й и 3-й степени); активный воспалительный процесс (инфекционной, аутоиммунной или другой этиологии) любой локализации.

При проведении молекулярно-генетических методов исследования в качестве биологического материала использовали цельную венозную кровь. Забор материала осуществлялся в стерильные одноразовые пробирки, содержащие антикоагулянт этилендиаминтетраацетилловую кислоту. Выделение геномной ДНК человека проводилось набором реагентов «ДНК-Экстран-1» («Синтол», РФ), предназначенным для выделения геномной ДНК из лейкоцитов крови. Полиморфные варианты С3872Т гена СРБ, G308А гена ФНО- $\alpha$  и G174С гена ИЛ-6 выявляли с помощью соответствующих наборов реактивов производства «Литех» (РФ). Рабочую реакцию смесь готовили согласно инструкции производителя, исходя из количества исследуемых образцов, а также 3 положительных и отрицательного контролей. Амплификацию исследуемого локуса ДНК осуществляли на амплификаторе Rotor Gene-Q (Qiagen, Германия).

Статистический анализ проводился с использованием программы Statistica 12.0. Поскольку большинство количественных признаков не подчинялось закону нормального распределения, при сравнении использовались непараметрические методы. Сравнение численных показателей между 2 независимыми группами проводилось с использованием непараметрического U-критерия Манна – Уитни. Статистическую значимость различий между качественными характеристиками оценивали при помощи точного критерия Фишера и критерия  $\chi^2$  Пирсона. В качестве количественной меры эффекта при сравнении относительных показателей использовался показатель относительного риска (ОР), определяемый как отношение вероятности наступления события в группе, подвергнутой воздействию фактора риска, к вероятности наступления события в контрольной группе. С целью проецирования полученных значений ОР на генеральную совокупность рассчитывались границы 95% доверительного интервала (ДИ). Исходя из полученных данных, значимость взаимосвязи исхода и фактора считалась доказанной в случае нахождения доверительного интервала за пределами границы отсутствия эффекта, принимаемой за 1. Пороговое значение уровня статистической значимости было принято равным 0,05.

## ■ РЕЗУЛЬТАТЫ

Пациенты исследуемых групп на момент включения в исследование были сопоставимы по полу, возрасту и клинико-нозологической характеристике (наличию и степени АГ, форме ИБС, наличию в анамнезе инфаркта миокарда, функциональному классу (ФК) ХСН по классификации NYHA). Достоверные различия в частоте встречаемости и структуре нарушений ритма между первыми 2 группами пациентов и контрольной группой обусловлены критериями включения пациентов в данные группы. Данные представлены в табл 1.

Пациенты были сопоставимы между собой по общему количеству принимаемых ЛС ( $7,39 \pm 2,22$  в группе QT+ против  $6,89 \pm 1,65$  в группе QT- ( $p=0,121$ ) и  $7,0 \pm 1,68$  в контрольной группе ( $p=0,126$ )). Общая продолжительность приема ААП III класса в 1-й группе составила  $3,58 \pm 1,3$  суток, что значительно отличалось от пациентов 2-й группы ( $7,82 \pm 1,6$  суток,  $p < 0,001$ ), что можно объяснить отменой причинного лекарственного препарата при регистрации удлинения интервала QT на ЭКГ.

Распределение частот генотипов и аллелей исследуемых полиморфизмов представлено в табл. 2. Следует отметить, что распределение частот генотипов во всех группах пациентов соответствовало теоретически ожидаемому равновесию Харди – Вайнберга.

Как следует из табл. 2, в группе пациентов QT+ достоверно чаще встречался генотип GA полиморфного варианта G308A гена ФНО- $\alpha$  по сравнению с другими группами пациентов ( $p < 0,001$ ). При этом генотип AA встречался только в группе пациентов

**Таблица 1**  
**Клинико-нозологическая характеристика исследуемых групп пациентов**  
**Table 1**  
**Clinical and nosological characteristics of the studied patient groups**

Параметры	Критерии	Группа QT+ (n=64)	Группа QT- (n=65)	Контрольная группа (n=40)	
Мужчины, n (%)		27 (42,1)	38 (58,5)	21 (52,5)	
Возраст, лет (M $\pm$ SD)		57,2 $\pm$ 9,4	56,1 $\pm$ 9,2	55,2 $\pm$ 7,7	
ИМТ, кг/м <sup>2</sup> (M $\pm$ SD)		29,8 $\pm$ 4,6	29,5 $\pm$ 4,8	28,9 $\pm$ 4,6	
АГ, n (%)	Нет АГ, n (%)	8 (12,5)	6 (9,2)	2 (5)	
	I ст., n (%)	10 (15,6)	18 (30,8)	10 (25)	
	II ст., n (%)	44 (68,8)	38 (58,5)	26 (65)	
	III ст., n (%)	2 (3,1)	3 (4,6)	2 (5)	
ИБС, n (%)	Нет ИБС, n (%)	9 (14,1)	8 (12,3)	4 (10)	
	ИБС: кардиосклероз, n (%)	8 (14,5)	5 (7,7)	2 (5)	
	Вазоспастическая стенокардия	ФК I, n (%)	14 (25,4)	18 (27,8)	9 (22,5)
		ФК II, n (%)	26 (47,)	23 (35,4)	14 (35)
		ФК III, n (%)	3 (5,4)	3 (4,6)	3 (4,5)
	ИМ в анамнезе, n (%)	10 (15,6)	7 (15,2)	8 (20)	
ФК ХСН, n (%)	ФК 0, n (%)	3 (5,4)	8 (12,3)	3 (7,5)	
	ФК I, n (%)	35 (54,7)	28 (43,1)	21 (52,5)	
	ФК II, n (%)	21 (32,)	23 (35,4)	14 (35)	
	ФК III, n (%)	5 (7,8)	6 (9,2)	2 (5)	



**Таблица 2**

**Распределение частот генотипов и аллелей полиморфизмов С3872Т гена СРБ, G308А гена ФНО-α и G174С гена ИЛ-6 по группам пациентов**

**Table 2**

**Distribution of genotype and allele frequencies of the C3872T polymorphism of the CRP gene, G308A polymorphism of the TNF gene and G174C polymorphism of the IL-6 gene by patient groups**

Параметр	Частота						p 1-2	p 1-3	p 2-3
	QT+		QT-		Без ААТ				
	абс.	%	абс.	%	абс.	%			
<b>Полиморфизм С3872Т гена СРБ</b>									
<b>Генотип</b>									
СС	24	37,5	27	41,5	14	35	>0,05	>0,05	>0,05
СТ	31	48,4	32	49,2	22	55	>0,05	>0,05	>0,05
ТТ	9	14,1	6	9,3	4	10	>0,05	>0,05	>0,05
<b>Аллель</b>									
С	79	61,7	86	66,2	50	62,5	>0,05	>0,05	>0,05
Т	49	38,3	44	33,8	30	37,5			
Соответствие равновесию Харди – Вайнберга	$\chi^2=0,14, p=0,84$		$\chi^2=0,64, p=0,42$		$\chi^2=1,20, p=0,27$		-	-	-
<b>Полиморфизм G308A гена ФНО-α</b>									
<b>Генотип</b>									
GG	30	46,9	53	81,5	33	82,5	<0,001	<0,001	>0,05
GA	30	46,9	12	18,5	7	17,5	<0,001	<0,001	>0,05
AA	4	6,2	0	0,0	0	0,0	0,041	>0,05	>0,05
<b>Аллель</b>									
G	90	70,3	118	90,8	73	91,3	<0,001	<0,001	>0,05
A	38	29,7	12	9,2	7	8,7			
Соответствие равновесию Харди – Вайнберга	$\chi^2=0,96, p=0,33$		$\chi^2=0,67, p=0,41$		$\chi^2=0,37, p=0,54$		-	-	-
<b>Полиморфизм G174C гена ИЛ-6</b>									
<b>Генотип</b>									
GG	15	23,4	4	6,2	2	5,0	0,006	0,014	>0,05
GC	37	57,9	35	53,8	20	50,0	>0,05	>0,05	>0,05
CC	12	18,7	26	40,0	18	45,0	0,018	0,004	>0,05
<b>Аллель</b>									
G	67	52,3	43	33,2	24	30,0	0,002	0,002	>0,05
C	61	47,7	87	66,8	56	70,0			
Соответствие равновесию Харди – Вайнберга	$\chi^2=1,61, p=0,20$		$\chi^2=2,03, p=0,18$		$\chi^2=1,45, p=0,23$		-	-	-

QT+, в то время как в других группах пациентов он отсутствовал. При анализе распределений аллелей выявлен больший процент встречаемости мутантной аллели А полиморфного варианта G308A гена ФНО-α у пациентов с СУИ QT (29,7%) по сравнению с пациентами без СУИ QT (9,2%) ( $p<0,001$ ) и пациентами контрольной группы (8,7%) ( $p<0,001$ ).

Таблица 3

Оценка относительного риска развития у пациентов лекарственно-индуцированного СУИ QT на фоне приема ААП III класса

Table 3

Assessment of the relative risk of drug-induced QT syndrome in patients taking class III antiarrhythmic drugs

Параметр	Относительный риск развития СУИ QT	95% ДИ	p
<b>Полиморфизм С3872Т гена СРБ</b>			
Генотип СС	0,90	0,59–1,38	>0,05
Генотип СG	0,98	0,69–1,40	>0,05
Генотип GG	1,52	0,57–4,03	>0,05
Аллель С	0,93	0,77–1,12	>0,05
Аллель G	1,13	0,82–1,57	>0,05
<b>Полиморфизм G308A гена ФНО-α</b>			
Генотип GG	0,57	0,43–0,76	0,001
Генотип GA	2,54	1,43–4,51	0,002
Генотип AA	9,13	0,51–16,35	>0,05
Аллель A	2,53	1,36–4,73	0,003
Аллель G	0,84	0,75–0,94	0,002
<b>Полиморфизм G174C гена ИЛ-6</b>			
Генотип GG	3,81	1,33–10,85	<0,001
Генотип GC	1,07	0,79–1,46	>0,05
Генотип СС	0,48	0,25–0,84	0,011
Аллель G	1,58	1,17–2,12	0,002
Аллель С	0,71	0,57–0,88	0,002

При анализе распределений генотипов полиморфизма G174C гена ИЛ-6 между группами установлено, что в группе пациентов QT+ достоверно чаще встречался генотип GG по сравнению с другими группами пациентов ( $p=0,006$  и  $p=0,014$  соответственно). При анализе распределений аллелей выявлен больший процент встречаемости мутантной аллели G у пациентов с СУИ QT (52,3%) по сравнению с пациентами без СУИ QT (33,2%) ( $p=0,002$ ) и пациентами контрольной группы (30%) ( $p=0,002$ ).

Таблица 4

Сравнительная характеристика электрокардиографических параметров пациентов в зависимости от генотипа по полиморфизму G308A гена ФНО-α

Table 4

Comparative characteristics of the electrocardiographic parameters of patients depending on the genotype of the G308A polymorphism of the TNF gene

Параметр	Генотип GG (n=83)	Генотип GA+AA (n=46)	p
Продолжительность интервала QTc (Bazett), мс	424 [346; 478]	477 [450; 516]	0,004
Продолжительность интервала JTc (Bazett), мс	333 [270; 350]	382 [350; 420]	0,036
Дисперсия интервала QT, мс	48 [33; 60]	66 [53; 79]	0,038
Продолжительность интервала $T_{peak}-T_{end}$ , мс	80 [72; 94]	84 [75; 99]	>0,05
Пространственный угол QRS-T, град.	76 [37; 106]	68 [30; 92]	>0,05
Патологическая альтернация зубца T, %	25 [12; 37]	30 [12,5; 50]	>0,05

Примечания: QTc – скорректированный интервал QT; JTc – скорректированный интервал JT.



Следует отметить, что в распределении аллелей и генотипов полиморфизма С3872Т гена СРБ между всеми исследуемыми группами пациентов значимых различий установлено не было.

Результаты оценки относительного риска развития у пациентов лекарственно-индуцированного СУИ QT на фоне приема ААП III класса представлены в табл. 3.

Как следует из табл. 3, присутствие в генотипе пациента рецессивной аллели А полиморфного варианта G308А гена ФНО- $\alpha$  в генотипе было связано с увеличением риска развития лекарственно-индуцированного СУИ QT в 2,53 раза ( $p=0,003$ ). Аналогичная зависимость была продемонстрирована и для генотипа GA (OR=2,54, 95% ДИ 1,43–4,51,  $p=0,002$ ). В то же время присутствие в генотипе аллели G, напротив, снижало риск развития лекарственно-индуцированного СУИ QT (OR=0,84, 95% ДИ 0,75–0,94,  $p=0,003$ ), как и наличие генотипа GG (OR=0,57, 95% ДИ 0,43–0,76,  $p=0,001$ ).

Подчеркнем, что присутствие в генотипе пациента аллели G полиморфизма G174C гена ИЛ-6 было ассоциировано с увеличением риска развития СУИ QT в 1,58 раза ( $p=0,011$ ), а генотипа GG – с увеличением риска в 3,81 раза ( $p<0,001$ ). Генотип CC и аллель C, напротив, были ассоциированы со снижением риска развития удлинения интервала QT при приеме антиаритмических препаратов.

Сравнительная характеристика электрокардиографических показателей пациентов групп QT+ и QT– в зависимости от их генотипа по полиморфным вариантам G308А гена ФНО- $\alpha$  и C174G гена ИЛ-6 приведена в табл. 4 и 5.

Так, между пациентами с генотипами GG и GC+CC по полиморфизму C174G гена ИЛ-6 не было выявлено достоверных различий ни в одном из исследуемых электрокардиографических показателей ( $p>0,05$ ). В то же время у пациентов с генотипами GA и AA по полиморфизму G308А гена ФНО- $\alpha$  были выявлены значимые различия ( $p<0,05$ ) в ряде показателей, характеризующих продолжительность реполяризации миокарда (корректированные интервалы QT и JT), а также степень ее гетерогенности (дисперсия интервала QT), по сравнению с пациентами с генотипом GG.

**Таблица 5**

**Сравнительная характеристика электрокардиографических параметров пациентов в зависимости от генотипа по полиморфизму G174C гена ИЛ-6**

**Table 5**

**Comparative characteristics of electrocardiographic parameters of patients depending on the genotype of the G174C polymorphism of the IL-6 gene**

Параметр	Генотип CC (n=40)	Генотип GG+GC (n=89)	p
Продолжительность интервала QTc (Bazett), мс	444 [366; 480]	463 [430; 502]	>0,05
Продолжительность интервала JTc (Bazett), мс	358 [288; 390]	374 [344; 418]	>0,05
Дисперсия интервала QT, мс	50 [28; 64]	56 [37; 77]	>0,05
Продолжительность интервала $T_{peak} - T_{end}$ , мс	75 [72; 87]	80 [75; 99]	>0,05
Пространственный угол QRS-T, град.	70 [32; 110]	79 [44; 98]	>0,05
Патологическая альтернация зубца T, %	30 [12,5; 50]	28 [12,5; 50]	>0,05

Примечания: QTc – скорректированный интервал QT; JTc – скорректированный интервал JT.

## ■ ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время изучению связи между уровнями провоспалительных цитокинов, а также их генетическими полиморфизмами и развитием заболеваний сердечно-сосудистой системы уделяется большое внимание. Проаритмогенный эффект воспалительных цитокинов имеет клиническое значение не только при активных воспалительных процессах, но и при наличии слабовыраженного хронического воспаления, которое наблюдается при структурных заболеваниях сердца, таких как ИБС и ХСН.

В экспериментальных моделях у трансгенных мышей со сверхэкспрессией ФНО- $\alpha$  наблюдалось снижение транзиторного калиевого тока (I<sub>to</sub>) и соответствующего белка калиевых каналов, а также пролонгирование потенциала действия и повышенная восприимчивость к развитию желудочковых нарушений ритма [14].

Инкубация *in vitro* кардиомиоцитов желудочков крысы с ФНО- $\alpha$  приводила к значительному ингибированию транзиторного калиевого тока. J. Wang и соавт. продемонстрировали, что ФНО- $\alpha$  подавляет *in vitro* быстрый компонент калиевого тока замедленного выпрямления, нарушая функцию калиевого канала hERG, которая также удлиняет потенциал действия [15]. Эти данные согласуются с результатами клинического исследования CARLA (Cardiovascular Disease, Living and Ageing in Halle), показавшего, что в когорте из 1716 участников уровень ФНО- $\alpha$  независимо коррелировал с продолжительностью интервала QTc у пациентов женского пола [16].

Нами не встречено в доступной литературе данных о связи между полиморфизмом G308A гена ФНО- $\alpha$  и развитием желудочковых аритмий, хотя ассоциации данного полиморфизма изучались при ИБС, инфаркте миокарда, сахарном диабете, неблагоприятном течении ХСН [17]. Авторы большинства работ указывают на ассоциацию носительства аллели А и генотипа АА с повышенным уровнем ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови, а также с риском развития коронарного атеросклероза и ИБС [17, 18]. В выполненном нами исследовании присутствие в генотипе пациента рецессивной аллели А полиморфного варианта G308A гена ФНО- $\alpha$  было связано с увеличением риска развития лекарственно-индуцированного СУИ QT в 2,53 раза, а присутствие генотипа GA – с увеличением риска в 2,54 раза, что может объясняться повышенной экспрессией ФНО- $\alpha$  у пациентов и его влиянием на функционирование калиевых каналов у пациентов с «резервом реполяризации».

Экспериментальной частью работ показано, что ИЛ-6 увеличивает продолжительность потенциала действия, повышая ток кальция через каналы L-типа. В частности, полученные данные указывают на то, что ИЛ-6 индуцирует фосфорилирование остатка серина в положении 1829 субъединицы кальциевого канала Cav1.2 под действием киназы, регулируемой внеклеточным сигналом, и что это фосфорилирование увеличивает ток I<sub>CaL</sub> [6, 7, 10].

В исследовании K. Safranow и соавт. в когорте из 167 пациентов с ИБС концентрация ИЛ-6 в плазме крови была признана независимым предиктором развития желудочковых нарушений ритма, включая устойчивую ЖТ и ФЖ [19]. В исследовании PROSe-ICD (проспективное обсервационное исследование имплантируемых кардиовертеров-дефибрилляторов), в котором приняли участие 1189 пациентов с ХСН с имплантированными кардиовертерами-дефибрилляторами (ИКД) для первичной профилактики ВСС, более высокие уровни ИЛ-6 сопровождалась увеличением риска разрядов ИКД [20]. Более того, среди 382 пациентов с ИКД циркулирующий ИЛ-6



был основным предиктором разрядов ИКД и ВСС, наряду с госпитализацией по поводу ХСН [20].

Полиморфизм С174G гена ИЛ-6 впервые был описан в 1998 году, когда D. Fishman и соавт. было показано, что у пациентов с ревматоидным артритом, имеющих аллель С в генотипе, продуцируется меньше ИЛ-6, чем у пациентов, имеющих аллель G [21]. Исследования данного полиморфизма в настоящее время включают потенциальную связь с сердечно-сосудистыми заболеваниями, сахарным диабетом 2-го типа, инсультом, ожирением и осложнениями, возникающими после трансплантации органов [21–23].

В исследовании J. Majewski и соавт., включавшем 136 пациентов, которым был имплантирован ИКД в качестве первичной (106 пациентов) или вторичной (30 пациентов) профилактики ВСС, наличие генотипа GC полиморфизма G174C гена ИЛ-6 было связано с более высокой частотой ЖТ и ФЖ по сравнению с генотипами GG и CC ( $p=0,02$ ) [22]. При исследовании полиморфного варианта G174C гена ИЛ-6 у пациентов с ИБС, участвовавших в Heart and Soul Study, определено, что носители генотипа GG имели увеличение риска развития ФП на фоне ИБС в 2,35 раза по сравнению с носителями генотипов CG и CC [23]. В нашем исследовании генотип GG оказался ассоциирован с увеличением риска развития лекарственно-индуцированного СУИ QT в 3,81 раза по сравнению с пациентами с другими генотипами полиморфизма G174C, что коррелирует с результатами приведенных экспериментальных и клинических исследований.

Выполненное нами исследование имело некоторые ограничения. Размер выборки был невелик, что могло способствовать переоценке или недооценке величины обнаруженных ассоциаций, а также повлиять на отсутствие статистической значимости полученных межгрупповых различий. В связи с этим полученные результаты требуют уточнения и проверки на более многочисленной и разнородной группе пациентов.

## ■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные нами данные свидетельствуют в пользу возможной вовлеченности системы генетического полиморфизма провоспалительных цитокинов (ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6) в регуляцию развития лекарственно-индуцированного СУИ QT. Предположительным механизмом этой связи можно считать различную степень активации калиевых и кальциевых ионных каналов в ответ на взаимодействие с причинным лекарственным препаратом, зависящую в том числе от концентрации ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6 в крови пациента. Таким образом, использование генотипов CC полиморфизма G174C гена ИЛ-6 и GA полиморфизма G308A гена ФНО- $\alpha$  возможно в стратификации риска развития приобретенного СУИ QT и его потенциально жизнеугрожающих осложнений у пациентов, принимающих антиаритмические препараты III класса.

## ■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Wang G., Chu H., Zhao N. The Clinical Diagnosis and Management of Long QT Syndrome: Insights from the 2022 ESC Guidelines. *Rev Cardiovasc Med.* 2023;24(6):170. doi: 10.31083/j.rcm2406170
2. Antoniou C.K., Dilaveris P., Manolagou P., et al. QT Prolongation and Malignant Arrhythmia: How Serious a Problem? *Eur Cardiol.* 2017;12(2):112–120. doi: 10.15420/ecr.2017.16:1

3. Tse G., Yan B.P. Traditional and novel electrocardiographic conduction and repolarization markers of sudden cardiac death. *Europace*. 2017;19(5):712–721. doi: 10.1093/europace/euw280
4. Niemeijer M.N., van den Berg M.E., Eijgelsheim M., et al. Pharmacogenetics of Drug-Induced QT Interval Prolongation: An Update. *Drug Saf*. 2015;38(10):855–67. doi: 10.1007/s40264-015-0316-6
5. Shenthur J., Rachaiah J.M., Pillai V., et al. Incidence of drug-induced torsades de pointes with intravenous amiodarone. *Indian Heart J*. 2017;69(6):707–713. doi: 10.1016/j.ihj.2017.05.024
6. Lazzarini P.E., Capecci P.L., Laghi-Pasini F. Long QT Syndrome: An Emerging Role for Inflammation and Immunity. *Front Cardiovasc Med*. 2015;2:26. doi: 10.3389/fcvm.2015.00026
7. Lazzarini P.E., Abbate A., Boutjdir M., et al. Fir(e)ing the Rhythm: Inflammatory Cytokines and Cardiac Arrhythmias. *JACC Basic Transl Sci*. 2023;8(6):728–750. doi: 10.1016/j.jacbs.2022.12.004
8. Wang J., Wang H., Zhang Y., et al. Impairment of HERG K(+) channel function by tumor necrosis factor-alpha: role of reactive oxygen species as a mediator. *J Biol Chem*. 2004;279(14):13289–92. doi: 10.1074/jbc.C400025200
9. Lazzarini P.E., Laghi-Pasini F., Boutjdir M., et al. Cardioimmunology of arrhythmias: the role of autoimmune and inflammatory cardiac channelopathies. *Nat Rev Immunol*. 2019;19(1):63–64. doi: 10.1038/s41577-018-0098-z
10. Lazzarini P.E., Acampa M., Laghi-Pasini F., et al. Cardiac Arrest Risk During Acute Infections: Systemic Inflammation Directly Prolongs QTc Interval via Cytokine-Mediated Effects on Potassium Channel Expression. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2020;13(8):e008627. doi: 10.1161/CIRCEP.120.008627
11. Bartekova M., Radosinska J., Jelemensky M., et al. Role of cytokines and inflammation in heart function during health and disease. *Heart Fail Rev*. 2018;23(5):733–758. doi: 10.1007/s10741-018-9716-x
12. Zhao H., Wu L., Yan G., et al. Inflammation and tumor progression: signaling pathways and targeted intervention. *Signal Transduct Target Ther*. 2021;6(1):263. doi: 10.1038/s41392-021-00658-5
13. Ayoub K.F., Pothineni N.V.K., Rutland J., et al. Immunity, Inflammation, and Oxidative Stress in Heart Failure: Emerging Molecular Targets. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2017;31(5–6):593–608. doi: 10.1007/s10557-017-6752-z
14. Hussein A.A., Gottdiener J.S., Bartz T.M., et al. Inflammation and sudden cardiac death in a community-based population of older adults: the Cardiovascular Health Study. *Heart Rhythm*. 2013;10(10):1425–32. doi: 10.1016/j.hrthm.2013.07.004
15. Wang J., Wang H., Zhang Y., et al. Impairment of HERG K(+) channel function by tumor necrosis factor-alpha: role of reactive oxygen species as a mediator. *J Biol Chem*. 2004;279(14):13289–92. doi: 10.1074/jbc.C400025200
16. Medenwald D., Kors J.A., Loppnow H., et al. Inflammation and prolonged QT time: results from the Cardiovascular Disease, Living and Ageing in Halle (CARLA) study. *PLoS One*. 2014;9. doi: 10.1371/journal.pone.0095994
17. Hazova E.V., Bulashova O.V., Valeeva E.V. Polymorphism of the tumor necrosis factor gene rs1800629 in patients with atherosclerotic cardiovascular diseases. *Consilium Medicum*. 2023;25(10):674–678. doi: 10.26442/20751753.2023.10.202164
18. Wang W., Peng W.H., Lu L., et al. Polymorphism on chromosome 9p21.3 contributes to early-onset and severity of coronary artery disease in non-diabetic and type 2 diabetic patients. *Chin Med J*. 2011;124:66–71. doi: 10.3901/jme.2011.08.066
19. Safranow K., Dziedziejko V., Rzeuski R., et al. Inflammation markers are associated with metabolic syndrome and ventricular arrhythmia in patients with coronary artery disease. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2016;70:56–66. doi: 10.5604/17322693.1194612
20. Wu K.C., Wongvibulsin S., Tao S., et al. Baseline and Dynamic Risk Predictors of Appropriate Implantable Cardioverter Defibrillator Therapy. *J Am Heart Assoc*. 2020;9(20):e017002. doi: 10.1161/JAHA.120.017002
21. Fishman D., Faulds G., Jeffery R., et al. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest*. 1998 Oct 1;102(7):1369–76. doi: 10.1172/JCI12629
22. Majewski J.P., Senderek T., Lelakowski J. The relationship between the 174G>C IL-6 gene polymorphism and ventricular arrhythmias in patients with ICD. *EP Europace*. 2014;16(3):26.
23. Marcus G.M., Whooley M.A., Glidden D.V., et al. Interleukin-6 and atrial fibrillation in patients with coronary artery disease: data from the Heart and Soul Study. *Am Heart J*. 2008;155(2):303–9. doi: 10.1016/j.ahj.2007.09.006



<https://doi.org/10.34883/PI.2026.15.2.008>



Dremuk I.<sup>1</sup>✉, Shliakhtunou Y.<sup>2</sup>, Pashinskaya E.<sup>2</sup>, Usova V.<sup>3</sup>, Staroselets A.<sup>3</sup>, Lukyanenko L.<sup>1</sup>, Sveshnikova A.<sup>4</sup>, Shamova E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

<sup>2</sup> Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Belarus

<sup>3</sup> Belarusian State University, Minsk, Belarus

<sup>4</sup> Center for Theoretical Problems of Physico-Chemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

## MicroRNA Expression in Platelet Microvesicles of Patients with Different Forms of Oncological Pathology: A Pilot Study

**Conflict of interest:** nothing to declare.

**Authors' contribution:** Dremuk I. – conducting experiments and data analysis, writing the manuscript; Shliakhtunou Y., Pashinskaya E. – collection of clinical data; Usova V., Staroselets A. – assistance in conducting the experiment; Lukyanenko L. – reviewing and editing the manuscript; Sveshnikova A., Shamova E. – concept and design, data analysis, reviewing, editing and supervision.

**Data availability statement.** The data that support the findings of this study are openly available at: <https://figshare.com/s/4d0ce9db3131beb005f0>

**Funding:** this work was supported by Belarusian Foundation for Fundamental Research grant (B23-RSF162) and Russian Science Foundation grant (23-45-10039).

The article is published in author's edition.

Submitted: 22.09.2025

Accepted: 17.02.2026

Contacts: irinadremuk@yandex.by

### Abstract

**Introduction.** MicroRNAs are a class of small non-coding RNAs that play crucial role in gene expression control. Numerous studies indicate that abnormal expression of microRNAs contributes to the development and progression of various malignancies. In recent years, microRNAs found in platelets and platelet-derived microvesicles have attracted considerable attention. Increased circulating platelet microvesicles and modified expression of their microRNAs have been reported in individuals with solid tumors.

**Purpose.** To study the expression state of microRNA-103a, microRNA-223a, microRNA-27a and microRNA-24 in platelet microvesicles in patients with breast cancer, lung cancer, renal cell carcinoma and skin melanoma.

**Materials and methods.** The study involved 70 patients, including 20 with breast cancer, 20 – lung cancer, 20 – renal cell carcinoma, 10 – melanoma and 10 clinically healthy individuals were involved in the study. PMVs were isolated from washed thrombin-stimulated platelets by sequential centrifugation. MicroRNA expression was studied using PCR analysis. Differences were considered statistically significant at  $p < 0.05$  and were assessed using the Mann – Whitney U test. The optimal cutoff value of miRNA-103a, miRNA-27a and miRNA-24 expression was determined using Receiver Operating Characteristic (ROC) analysis.

**Results.** A significant reduction in the expression levels of platelet-derived microRNA-103a (2.2- and 4.1-fold, respectively), microRNA-27a (2.6- and 7.9-fold, respectively),

and microRNA-24 (4-fold in both pathologies) was observed in patients with renal cell carcinoma and melanoma. Moreover, reduced levels of platelet-derived microRNA-27a were identified in patients with breast (6.9-fold) and lung cancers (3.3-fold).

**Conclusion.** The obtained results indicate the potential use of the test for determining the expression of microRNA in platelet microvesicles as biomarkers for a number of oncological diseases: renal cell carcinoma, melanoma, breast cancer and lung cancer.

**Keywords:** platelet-derived microvesicles, microRNA, breast cancer, lung cancer, renal cell carcinoma, skin melanoma

---

Дремук И.А.<sup>1</sup>✉, Шляхтунов Е.А.<sup>2</sup>, Пашинская Е.С.<sup>2</sup>, Усова В.А.<sup>3</sup>, Староселец А.В.<sup>3</sup>, Лукьяненко Л.М.<sup>1</sup>, Свешникова А.Н.<sup>4</sup>, Шамова Е.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

<sup>2</sup> Витебский государственный медицинский университет, Витебск, Беларусь

<sup>3</sup> Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

<sup>4</sup> Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук, Москва, Россия

## Экспрессия микроРНК в микровезикулах тромбоцитов пациентов с различными формами онкологической патологии: пилотное исследование

**Конфликт интересов:** не заявлен.

**Вклад авторов:** Дремук И.А. – проведение экспериментов, анализ данных, написание рукописи; Шляхтунов Ю.А., Пашинская Е.С. – сбор клинических данных; Усова В.А., Староселец А.В. – помощь в проведении эксперимента; Лукьяненко Л.М. – рецензирование и редактирование рукописи; Свешникова А.Н., Шамова Е.В. – концепция и дизайн, анализ данных, рецензирование, редактирование и руководство.

**Заявление о доступности данных:** данные, подтверждающие выводы данного исследования, находятся в открытом доступе (<https://figshare.com/s/4d0ce9db3131beb005f0>).

**Финансирование:** работа поддержана Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований (грант № Б23РНФ-162) и Российским научным фондом (грант РНФ23-45-10039).

Статья опубликована в авторской редакции.

Подана: 22.09.2025

Принята: 17.02.2026

Контакты: irinadremuk@yandex.by

---

### Резюме

**Введение.** МикроРНК – класс малых некодирующих РНК, играющих ключевую роль в регуляции экспрессии генов. Многочисленные исследования показывают, что аномальная экспрессия микроРНК способствует развитию и прогрессированию различных злокачественных новообразований. В последние годы микроРНК, обнаруженные в тромбоцитах и тромбоцитарных микровезикулах, привлекают значительное внимание. У пациентов с солидными опухолями отмечено увеличение количества циркулирующих тромбоцитарных микровезикул и изменение экспрессии их микроРНК.



**Цель.** Изучить состояние экспрессии микроРНК-103а, микроРНК-223а, микроРНК-27а и микроРНК-24 в тромбоцитарных микровезикулах у пациентов с раком молочной железы, раком легкого, почечно-клеточным раком и меланомой кожи.

**Материалы и методы.** В исследовании приняли участие 70 пациентов, из них 20 страдают раком молочной железы, 20 – раком легкого, 20 – почечно-клеточным раком, 10 – меланомой, и 10 клинически здоровых лиц. PMV были выделены из отмытых тромбин-стимулированных тромбоцитов методом последовательного центрифугирования. Экспрессию микроРНК изучали с помощью ПЦР-анализа. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$  и оценивались с помощью U-критерия Манна – Уитни. Оптимальное пороговое значение экспрессии miRNA-103а, miRNA-27а и miRNA-24 определяли с помощью ROC-анализа.

**Результаты.** У пациентов с почечно-клеточным раком и меланомой наблюдалось значительное снижение уровня экспрессии микроРНК-103а (в 2,2 и 4,1 раза соответственно), микроРНК-27а (в 2,6 и 7,9 раза соответственно) и микроРНК-24 (в 4 раза при обеих патологиях). Кроме того, снижение уровня тромбоцитарной микроРНК-27а было выявлено у пациентов с раком молочной железы (в 6,9 раза) и раком легкого (в 3,3 раза).

**Заключение.** Полученные результаты указывают на потенциальную возможность использования теста определения экспрессии микроРНК в микровезикулах тромбоцитов в качестве биомаркеров ряда онкологических заболеваний: почечно-клеточного рака, меланомы, рака молочной железы и рака легкого.

**Ключевые слова:** микровезикулы тромбоцитарного происхождения, микроРНК, рак молочной железы, рак легкого, почечно-клеточный рак, меланома кожи

## ■ INTRODUCTION

Platelets are anuclear blood cells of 2–3  $\mu\text{m}$  in diameter, derived from megakaryocytes in the bone marrow [1]. For many years, platelets were considered only as key participants in hemostasis, facilitating primary blood clotting and stopping bleeding [2], however accumulated research data over the past decade have demonstrated the pivotal role of platelets in modulating immune responses, that includes involvement in inflammation, regulation of innate and adaptive immunity, and interactions with immune cells and endothelium [2, 3]. Platelets play an active role in the development, progression and metastasis of oncological diseases by regulating proliferative activity and epithelial-mesenchymal transition [4], stimulating of angiogenesis and vascular remodeling, and protecting circulating tumor cells from immune surveillance [2, 5].

Platelets constitute the main source of microvesicles in the peripheral bloodstream [6]. The number of circulating platelet microvesicles (PMVs) increases in numerous diseases, such as thrombocytopenia [7], arterial thrombosis [8], sepsis [9], malignant neoplasms [10]. It has been shown that PMVs facilitate the delivery of RNA into tumor cells and that platelet-associated microRNAs play a crucial role in cancer progression [11]. MicroRNAs are short sequences of 18–25 nucleotides which influence various aspects of cellular function by regulating gene expression, interfering with protein translation, or facilitating mRNA degradation through binding to the untranslated regions (UTRs) of target mRNA

[12]. TMBs may promote angiogenesis and enhance vascular permeability by transferring microRNAs to endothelial cells, thereby fostering a vascular microenvironment favorable to tumor growth and metastasis [13, 14]. Conversely, TMBs can directly transfer microRNAs into tumor cells, thereby regulating gene expression and tumor progression [13].

MicroRNAs are classified as tumor suppressors or oncogenes based on their role in tumor development. Suppressor microRNAs inhibit the expression of oncogenes or pro-apoptotic genes, while oncogenic microRNAs promote carcinogenesis or downregulate tumor suppressor genes [15]. Several platelet-derived microRNAs, including microRNA-27a, microRNA-24, microRNA-155, microRNA-195, let-7a/b, and microRNA-223, target both tumor suppressor genes and oncogenes across various cancer types, and are currently being considered as diagnostic and prognostic markers for malignancies [16–19]. Specifically, miR-24 and miR-223 are linked to several types of cancer and target both tumor suppressors and oncogenes, with ongoing identification of new targets and mechanisms of action [16, 19]. It is obvious that platelet microRNAs play an important role in cancer, however, the mechanisms underlying their involvement in this pathological process are far from being fully understood.

## ■ PURPOSE OF THE STUDY

To study the expression state of microRNA-103a, microRNA-223a, microRNA-27a and microRNA-24 in platelet microvesicles in patients with breast cancer, lung cancer, renal cell carcinoma and skin melanoma.

## ■ MATERIALS AND METHODS

### Research Subjects

The study was carried out on PMVs from 70 individuals with resectable stages of malignant neoplasms. The control group consisted of 10 conditionally healthy individuals (without oncological diseases). The characteristics of the study participants are presented in Table 1.

### Preparation of PMVs

Peripheral venous blood stabilized with sodium citrate (3.8%, in a ratio of 9 : 1 by volume) was centrifuged for 10 min at 190×g at room temperature. Subsequently, the platelet-rich plasma (PRP) was carefully collected, ensuring that the mononuclear cell

**Table 1**  
Characteristics of study participants and pathomorphological features of the tumor

Localization	n	Average age, years	Pathomorphological features of the tumor, TNM								
			T (%)			N (%)		Stage (%)			
			T1	T2	T3	N0	N+	I	II	III	
Lung cancer	20	58.0±12.7	50	40	10	55	45	30	35	35	
Breast cancer	20	61.4±7.2	70	30	0	45	55	40	50	10	
Renal cell carcinoma	20	62.2±6.7	70	25	5	65	35	60	5	35	
Melanoma of the skin	10	43.4±11.3	50	40	10	70	30	50	20	30	

Notes: T (Tumor): Describes the size of the primary tumor and the extent of its spread into nearby tissue. Numbers from 1 to 3 indicate increasing tumor size and spread. N (Nodus): Indicates how much cancer has spread to nearby lymph nodes. N0 means no cancer cells are found in the lymph nodes. N+ means the number of affected lymph nodes is unknown.



and erythrocyte layers remained undisturbed. PRP was then mixed with sodium citrate (pH 5.5) and Tyrode's buffer (TB, 137 mmol/L NaCl, 2.7 mmol/L KCl, 11.9 mmol/L NaHCO<sub>3</sub>, 0.43 mmol/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 5 mmol/L HEPES, 5.5 mmol/L D-glucose, 1 mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 3.5 g/L BSA, pH 7.35) in a 1 : 1 : 2 volume ratio and centrifuged at 400×g for 5 min at room temperature. The supernatant was removed and the pellet was resuspended in TB to a final concentration of 3×10<sup>8</sup> platelets/mL CaCl<sub>2</sub> (1.5 mM) and thrombin (0.1 U/ml) were added to the washed platelet suspension, followed by incubation at 37 °C for 90 minutes. The activated platelet suspension was centrifuged at 3160×g for 15 minutes at 4 °C to pellet the cells. The resulting supernatant was collected and centrifuged again at 2500×g for 15 minutes at 4 °C to ensure complete sedimentation of residual cells. The supernatant was transferred to 1 mL Eppendorf tubes and centrifuged at 20 000×g for 90 minutes at 4 °C. The final supernatant was discarded, and the resulting pellet was washed with TB at one-tenth of the original volume, transferred to clean Eppendorf tubes, and stored at –80 °C. In this way, platelet-derived microvesicles were isolated from washed platelets at a concentration of 3×10<sup>8</sup> platelets/mL and concentrated into a volume reduced tenfold compared to the original suspension of washed platelets.

### RNA Extraction and Quantitative RT-PCR of microRNA

Total RNA was extracted from platelet microvesicle samples using the phenol-chloroform method [20]. For this purpose, 1 ml of RNA extraction reagent was added to 200 µl of microvesicles. The resulting mixture was incubated at room temperature for 5 minutes and then centrifuged at 12 000×g for 10 minutes, after which the supernatant was transferred to new tubes. To remove proteins, DNA and other contaminants, 0.2 ml of chloroform was added, mixed thoroughly, and centrifuged at 12000 × g for 15 minutes. The RNA-containing upper aqueous phase was collected. Subsequently, 0.5 ml of isopropanol was added, centrifuged at 12 000 g for 10 minutes, after which the supernatant was carefully discarded. The RNA pellet was washed with 1 mL of 75% ethanol and centrifuged at 8000×g for 5 minutes. The ethanol was carefully removed, and the RNA pellet was air-dried before being dissolved in 50 µL of nuclease-free water. RNA concentration and purity were determined spectrophotometrically. Complementary DNA (cDNA) synthesis and PCR analysis were performed using the miRCURY LNA miRNA PCR Starter Kit (Qiagen) according to the manufacturer's protocol. For cDNA synthesis (Table 2), the RNA concentration was adjusted to 20 ng/µl in all samples.

For PCR analysis (Table 3), commercial primers optimized using LNA technology were used, which provide sensitive and specific quantification of the studied microRNAs [21].

Melting curve analysis was performed in the temperature range of 60–95 °C. Detection of PCR products and initial data processing were carried out using Bio-Rad CFX Maestro software. Further data processing and statistical analysis were performed using MS Excel and Origin 2021.

**Table 2**  
Reverse transcription temperature cycling protocol

Stage	Time	Temperature
Reverse transcription	60 min	42 °C
Inactivation reaction	5 min	95 °C
Cooling	Continuous	4 °C

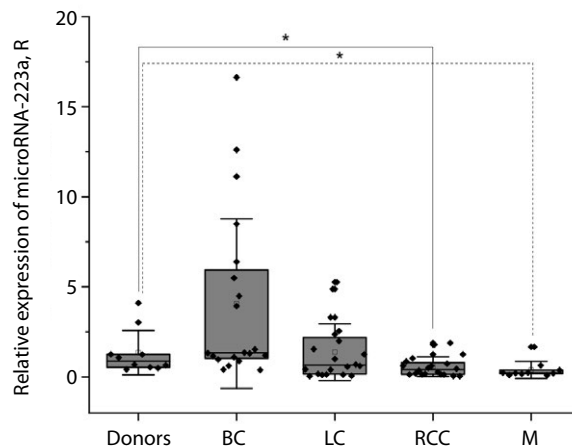
**Table 3**  
PCR cycling conditions (40 cycles in total)

Stage	Time	Temperature	Rate of change
Initial heat activation	2 min	95 °C	Maximum / fast mode
Denaturation	10 sec	95 °C	Maximum / fast mode
Annealing	60 sec	56 °C	Maximum / fast mode

For each sample, the threshold cycle (Cq) value was determined, reflecting the point at which the amplification curve intersects the baseline. To eliminate the normalization issue for microRNA expression in the platelet microvesicles, depending on the absence of stable microRNA, we used the means normalization method [22]. The relative expression level (R) of microRNA was calculated using the equation:  $R=2^{\Delta Cq}$ , where  $\Delta Cq = Cq_{average} - Cq_{sample}$ ;  $Cq_{average}$  refers to the average Cq value of the control group (donors), and  $Cq_{sample}$  is the Cq value of the individual sample. Differences were considered statistically significant at  $p < 0.05$  and were assessed using the Mann – Whitney U test. The optimal cutoff value of miRNA-103a, miRNA-27a and miRNA-24 expression was determined using Receiver Operating Characteristic (ROC) analysis.

## RESULTS

In our preliminary study, we examined those microRNAs that are highly expressed in platelet microvesicles. Using PCR analysis, we examined the expression levels of microRNA-103a, microRNA-223a, microRNA-27a, and microRNA-24 in platelet microvesicles from patients with BC, LC, RCC, and melanoma. Our results revealed a significant decrease in the median expression level of microRNA-103a compared to the control group in RCC (2.2-fold,  $p=0.0019$ ) and melanoma (4.1-fold,  $p=0.002$ ). In addition, we observed a trend toward increased expression in BC (1.5-fold) and decreased expression in LC (1.3-fold), although these changes did not reach statistical significance (Fig. 1).

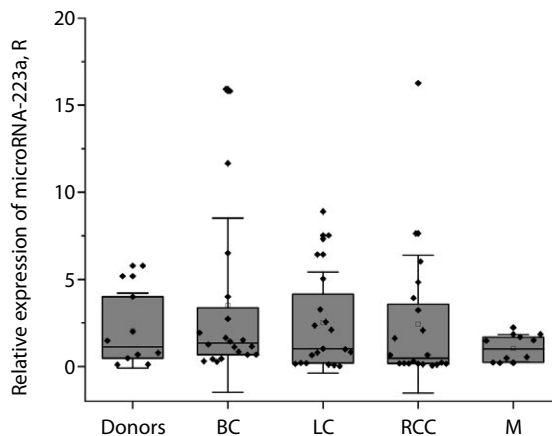


**Fig. 1. Relative expression (R) of microRNA-103a in platelet microvesicles from donors and patients with breast cancer (BC), lung cancer (LC), renal cell carcinoma (RCC), and melanoma (M). Data are presented as median values with interquartile ranges [25th percentile; 75th percentile] and standard deviation. \*  $p < 0.05$  (Mann – Whitney test)**

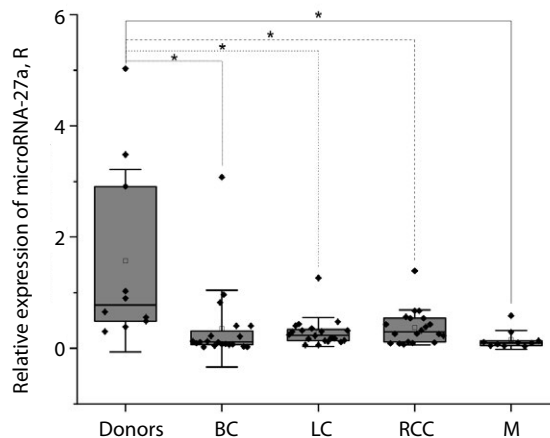


One of the most abundant platelet microRNAs is microRNA-223a [23, 24], whose expression is also deregulated in many types of cancer [6, 23]. Our results showed that in all the malignancies we examined, the expression of microRNA-223a did not differ significantly from that in the control group (Fig. 2).

In our study, we found a significant decrease in the median expression levels of platelet-derived microRNA-27a compared to the control group across all cancer types examined: in BC by 6.9-fold ( $p=0.0003$ ), in LC by 3.3-fold ( $p=0.0006$ ), in RCC by 2.6-fold ( $p=0.0022$ ), in melanoma by 7.9-fold ( $p=0.0013$ ) (Fig. 3).



**Fig. 2.** Relative expression (R) of microRNA-223a in platelet microvesicles from donors and patients with breast cancer (BC), lung cancer (LC), renal cell carcinoma (RCC), and melanoma (M). Data are presented as median values with interquartile ranges [25th percentile; 75th percentile] and standard deviation. \*  $p<0.05$  (Mann – Whitney test)

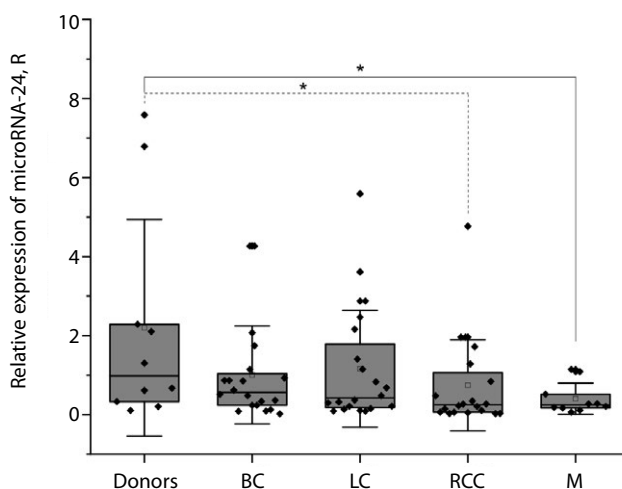


**Fig. 3.** Relative expression (R) of microRNA-27a in platelet microvesicles from donors and patients with breast cancer (BC), lung cancer (LC), renal cell carcinoma (RCC), and melanoma (M). Data are presented as median values with interquartile ranges [25th percentile; 75th percentile] and standard deviation. \*  $p<0.05$  (Mann – Whitney test)

Another important member of the microRNA family is microRNA-24. The results of our study demonstrated a significant decrease in the median expression levels of platelet microRNA-24 compared to the control group in RCC (4-fold,  $p=0.032$ ) and in melanoma (4-fold,  $p=0.0035$ ). A trend towards decreased expression of microRNA-24 was also observed in BC (1.7-fold) and in LC (2.3-fold) (Fig. 4).

Table 4 summarizes data we obtained in our study.

We conducted receiver operating characteristic (ROC) curve analysis to determine the optimal threshold (cutoff) expression levels of miRNA-103a and miRNA-24 for RCC and melanoma, as well as miRNA-27a for the entire group of malignancies analyzed. These cutoff values were selected based on the maximal Youden index, providing the greatest discrimination between pathological and non-pathological conditions. The corresponding ROC curves and performance metrics are shown in Fig. 5 and summarized in Table 5.



**Fig. 4.** Relative expression (R) of microRNA-24 in platelet microvesicles from donors and patients with breast cancer (BC), lung cancer (LC), renal cell carcinoma (RCC), and melanoma (M). Data are presented as median values with interquartile ranges [25th percentile; 75th percentile] and standard deviation. \*  $p < 0.05$  (Mann – Whitney test)

**Table 4**  
Changes in microRNA expression in PMVs of cancer patients

	microRNA-103a	microRNA-223a	microRNA-27a	microRNA-24
BC	–	–	↓6.9-fold, $p=0.0003$	–
LC	–	–	↓3.3-fold, $p=0.0006$	–
RCC	↓2.2-fold, $p=0.0019$	–	↓2.6-fold, $p=0.0022$	↓4.0-fold, $p=0.0032$
Melanoma	↓4.1-fold, $p=0.0020$	–	↓7.9-fold, $p=0.0013$	↓4.0-fold, $p=0.0035$



**Table 5**  
**Results of ROC curve analysis of microRNA-103a, microRNA-27a, and microRNA-24 expression in patients with various types of cancer**

Study groups	microRNA	AUC	p	Sensitivity	Specificity	Optimal cutoff point
RCC and donors	103a	0.76	0.020	50%	100%	0.39
	24	0.74	0.003	70%	70%	0.54
	27a	0.96	0.0005	90%	100%	0.29
Melanoma and donors	103a	0.89	0.003	80%	100%	0.40
	24	0.78	0.03	70%	80%	0.30
	27a	0.84	0.03	80%	70%	0.55
BC and donors	27a	0.89	0.0007	75%	100%	0.26
LC and donors	27a	0.92	0.0002	95%	80%	0.49

Notes: area under the curve (AUC) values: 0.9–1 – excellent model performance; 0.8–0.9 – very good; 0.7–0.8 – good; 0.6–0.7 – fair (average); 0.5–0.6 – poor.

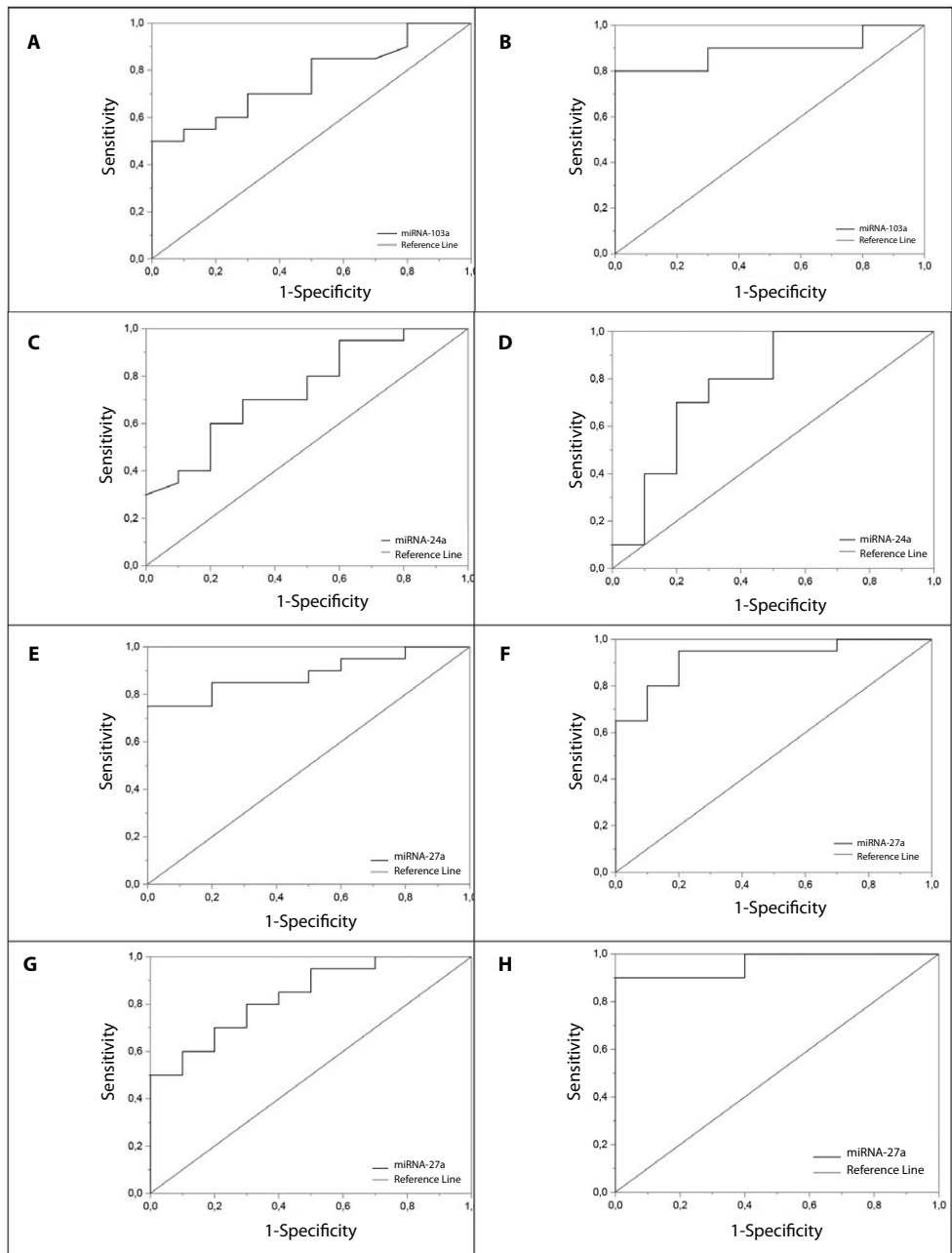
## ■ DISCUSSION

MicroRNA-103a has been shown to act as both an oncogene and a tumor suppressor in cancer development. In particular, Hu X. et al. [25] demonstrated that overexpression of microRNA-103a caused stimulation of cell proliferation in gastric cancer. Xia W. et al. [26] found that microRNA-103a promoted the growth of hepatocellular carcinoma by targeting AKAP12 (A-kinase anchoring protein 12). In addition, microRNA-103a has been shown to promote cell proliferation and migration in colorectal cancer cells by targeting the tumor suppressor genes DICER and PTEN [27].

However, some studies have reported that microRNA-103a functions as a tumor suppressor in several human cancers. In prostate cancer (PC) cells, elevated microRNA-103a expression was shown to inhibit cell migration and invasion through regulation of the oncogenic protein TPD52 [28]. Moreover, microRNA-103a inhibited the malignant progression of glioma by binding to FEZF1 at the 3'-UTR [29]. These conflicting findings indicate that microRNA-103a expression is tissue specific and may serve as a potential diagnostic and prognostic marker in various human cancers.

Our study showed that the expression of platelet microRNA-103a was significantly reduced in RCC and melanoma compared to the donor group, suggesting a possible tumor-suppressive role of microRNA-103a in these cancer types. However, the mechanisms underlying its function remain to be elucidated.

Increased expression of microRNA-223a has been associated with poor prognosis and drug resistance in non-small cell LC [30] and stomach cancer [31]. In contrast, microRNA-223a plays a tumor suppressor role in human PC [32], bladder cancer [33], cervical cancer [34] и hepatocellular carcinoma [35]. Liang H. et al. showed that miR-223a expression in platelet-derived microvesicles from patients with metastatic lung cancer was significantly elevated compared to that in donors and may promote lung cancer cell invasion via targeting the tumor suppressor EPB41L3 [6]. However, we did not observe such an increase in our results. A possible explanation is that the patients enrolled in our study were at early, resectable stages of malignancy.



**Fig. 5.** ROC curves based on the expression levels of microRNA-103a, microRNA-24, and microRNA-27a in patients with RCC (A, C, G) and melanoma (B, D, H), as well as microRNA-27a expression in patients with BC (E) and LC (F)



MicroRNA-27a also plays a dual role in cancer development. This microRNA is upregulated and promotes proliferation and invasion, while inhibiting apoptosis in osteosarcoma cells through TET1 regulation, indicating an oncogenic role for microRNA-27a [36].

In contrast, microRNA-27a has been found to be downregulated in hepatocellular carcinoma, where it suppresses tumor metastasis and vasculogenic mimicry by targeting Twist-1 [37]. In recent years, circulating microRNA-27a has emerged as a predictive and prognostic biomarker in gastrointestinal tumors, as it can be secreted by exosomes into the serum circulation in gastric cancer [38]. Circulating exosomal microRNA-27a has also been reported as a novel diagnostic and prognostic biomarker in colorectal cancer [39]. In our study, we found a significant reduction in median miRNA-27a expression levels compared to the control group in all cancer types studied, which allows us to consider this miRNA as a potential biomarker.

Studies have shown that microRNA-24 is involved in tumor cell proliferation, differentiation, invasion, and metastasis by regulating numerous genes, including PTEN, TRIM11, SOX7, PRKCH, and P16 [40]. Platelet-derived microRNA-24 has also been shown to target mitochondrial mt-Nd2 and Snora75 in tumor cells [14]. Circulating microRNA-24 has been identified as a promising prognostic marker in various types of cancer, including gastric, lung, and colorectal cancers, as well as acute lymphoblastic leukemia and others [40, 41]. However, microRNA-24 exhibits variable expression across different cancers and may function as either an oncogene or a tumor suppressor. In particular, increased microRNA-24 expression has been reported in lung, breast, bladder and gastric cancers, as well as in acute leukemia, and Hodgkin's lymphoma [42]. On the other hand, microRNA-24 has been shown to be downregulated in nasopharyngeal and colorectal cancers, laryngeal squamous cell carcinoma, and lung adenocarcinoma compared to normal tissues [42]. The results of our study demonstrated a significant decrease in the median expression levels of platelet microRNA-24 compared to the control group in RCC and in melanoma, which also allows us to consider microRNA-24 as a potential biomarker for these types of cancer.

The ROC analysis enabled an objective evaluation of the diagnostic performance of the studied microRNAs and facilitated the identification of threshold expression levels distinguishing between the presence and absence of pathology. Expression values equal to or exceeding the determined cutoff points were associated with a higher probability of malignancy in the respective comparisons.

Consequently, our results allowed us to identify three microRNAs (microRNA-103a, microRNA-27a, and microRNA-24) whose expression is suppressed in patients PMVs, suggesting their potential function as tumor suppressors. These microRNAs may serve as possible cancer biomarkers in patients with solid tumors: microRNA-27a in BC and LC, and microRNA-103a, microRNA-27a, and microRNA-24 in RCC and melanoma.

It's also worth noting that the wide variation in the obtained microRNA expression levels is primarily due to the fact that the sample included patients with different cancer subtypes within a single pathology. Future studies should take this into account and conduct a similar study disaggregated by subtype.

## ■ CONCLUSION

Accumulating evidence suggests that numerous microRNAs are abnormally expressed in tumor tissues, blood, and cells, and that dysregulation of these microRNAs is associated with tumor initiation, progression, and prognosis. Some microRNAs have oncogenic functions and their expression increases in cancer patients; while others are downregulated and act as tumor suppressors. In addition, the same microRNA can act as both an oncogene and an oncosuppressor, depending on the tumor type and location.

In recent years, platelet microRNAs have attracted considerable attention, as they may offer higher sensitivity and specificity in tumor diagnosis compared to circulating microRNAs. In this study, we found decreased expression levels of platelet microRNA-103a, microRNA-27a, and microRNA-24 in patients with RCC and melanoma, as well as decreased expression of platelet-derived microRNA-27a in patients with BC and LC, suggesting that these microRNAs may serve as potential biomarkers.

However, several limitations should be considered in the present study. First, our results are based on a relatively small sample size of donors and patients with different types of cancer, which may limit statistical power. Second, the underlying mechanisms by which these microRNAs contribute to the development of the studied malignancies remain unclear and require further investigation. Nevertheless, our results may serve as a basis for the development of a diagnostic panel of microRNA-based biomarkers, at least for patients with RCC and melanoma.

---

## ■ REFERENCES

1. Chaudhary PK, Kim S, Kim S. Shedding Light on the Cell Biology of Platelet-Derived Extracellular Vesicles and Their Biomedical Applications. *Life (Basel)*. 2023;13:1403.
2. Contursi A, Tacconelli S, Di Berardino S, et al. Platelets as crucial players in the dynamic interplay of inflammation, immunity, and cancer: unveiling new strategies for cancer prevention. *Front Pharmacol*. 2024;15:1520488.
3. Semple JW, Italiano JE, Freedman J. Platelets and the immune continuum. *Nat Rev Immunol*. 2011;11:264–74.
4. Morales-Pacheco M, Valenzuela-Mayen M, Gonzalez-Alatriste AM, et al. The role of platelets in cancer: from their influence on tumor progression to their potential use in liquid biopsy. *Biomark Res*. 2025;13:27.
5. Sabrkhanly S, Griffioen AW, Oude Egbrink MGA. The role of blood platelets in tumor angiogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Reviews on Cancer*. 2011;1815:189–96.
6. Liang H, Yan X, Pan Y, et al. MicroRNA-223 delivered by platelet-derived microvesicles promotes lung cancer cell invasion via targeting tumor suppressor EPB41L3. *Mol Cancer*. 2015;14:58.
7. Hughes M, Hayward CP, Warkentin TE, et al. Morphological analysis of microparticle generation in heparin-induced thrombocytopenia. *Blood*. 2000;96:188–94.
8. Mallat Z, Benamer H, Hugel B, et al. Elevated Levels of Shed Membrane Microparticles With Procoagulant Potential in the Peripheral Circulating Blood of Patients With Acute Coronary Syndromes. *Circulation*. 2000;101:841–3.
9. Janiszewski M, Do Carmo AO, Pedro MA, et al. Platelet-derived exosomes of septic individuals possess proapoptotic NAD(P)H oxidase activity: A novel vascular redox pathway\*. *Critical Care Medicine*. 2004;32:818–25.
10. Varon D, Shai E. Role of platelet-derived microparticles in angiogenesis and tumor progression. *Discov Med*. 2009;8:237–41.
11. Lazar S, Goldfinger LE. Platelets and extracellular vesicles and their cross talk with cancer. *Blood*. 2021;137:3192–200.
12. Czajka P, Fitas A, Jakubik D, et al. MicroRNA as Potential Biomarkers of Platelet Function on Antiplatelet Therapy: A Review. *Front Physiol*. 2021;12:652579.
13. Leng Q, Ding J, Dai M, et al. Insights Into Platelet-Derived MicroRNAs in Cardiovascular and Oncologic Diseases: Potential Predictor and Therapeutic Target. *Front Cardiovasc Med*. 2022;9:879351.
14. Michael JV, Wurtzler JGT, Mao GF, et al. Platelet microparticles infiltrating solid tumors transfer miRNAs that suppress tumor growth. *Blood*. 2017;130:567–80.
15. Smolarz B, Durczyńska A, Romanowicz H, et al. miRNAs in Cancer (Review of Literature). *Int J Mol Sci*. 2022;23:2805.
16. Barbagallo D, Ponti D, Bassani B, et al. MiR-223-3p in Cancer Development and Cancer Drug Resistance: Same Coin, Different Faces. *IJMS*. 2024;25:8191.
17. Chen Z, Ma T, Huang C, et al. The Pivotal Role of microRNA-155 in the Control of Cancer. *Journal Cellular Physiology*. 2014;229:545–50.
18. Garcia A, Dunoyer-Geindre S, Fontana P. Do miRNAs Have a Role in Platelet Function Regulation? *Hamostaseologie*. 2021;41:217–24.
19. Inoguchi S, Seki N, Chiyomaru T, et al. Tumour-suppressive microRNA-24-1 inhibits cancer cell proliferation through targeting FOXM1 in bladder cancer. *FEBS Letters*. 2014;588:3170–9.



20. Toni LS, Garcia AM, Jeffrey DA, et al. Optimization of phenol-chloroform RNA extraction. *MethodsX*. 2018;5:599–608.
21. Stenvang J, Silahatoglu AN, Lindow M, et al. The utility of LNA in microRNA-based cancer diagnostics and therapeutics. *Seminars in Cancer Biology*. 2008;18:89–102.
22. Mestdagh P, Van Vlierbergh P, De Weer A, et al. A novel and universal method for microRNA RT-qPCR data normalization. *Genome Biol*. 2009;10:R64.
23. Laffont B, Corduan A, Plé H, et al. Activated platelets can deliver mRNA regulatory Ago2-microRNA complexes to endothelial cells via microparticles. *Blood*. 2013;122:253–61.
24. Pan Y, Liang H, Liu H, et al. Platelet-secreted microRNA-223 promotes endothelial cell apoptosis induced by advanced glycation end products via targeting the insulin-like growth factor 1 receptor. *J Immunol*. 2014;192:437–46.
25. Hu X, Miao J, Zhang M, et al. miRNA-103a-3p Promotes Human Gastric Cancer Cell Proliferation by Targeting and Suppressing ATF7 in vitro. *Mol Cells*. 2018;41:390–400.
26. Xia W, Ni J, Zhuang J, et al. MiR-103 regulates hepatocellular carcinoma growth by targeting AKAP12. *Int J Biochem Cell Biol*. 2016;71:1–11.
27. Geng L, Sun B, Gao B, et al. MicroRNA-103 promotes colorectal cancer by targeting tumor suppressor DICER and PTEN. *Int J Mol Sci*. 2014;15:8458–72.
28. Ge J, Mao L, Xu W, et al. miR-103a-3p Suppresses Cell Proliferation and Invasion by Targeting Tumor Protein D52 in Prostate Cancer. *J Invest Surg*. 2021;34:984–92.
29. Yu M, Xue Y, Zheng J, et al. Retraction Note to: Linc00152 promotes malignant progression of glioma stem cells by regulating miR-103a-3p/FEZF1/CDC25A pathway. *Mol Cancer*. 2022;21:188.
30. Xu Y-H, Tu J-R, Zhao T-T, et al. Overexpression of lncRNA EGFR-AS1 is associated with a poor prognosis and promotes chemotherapy resistance in non-small cell lung cancer. *Int J Oncol*. 2019;54:295–305.
31. Li J, Guo Y, Liang X, et al. MicroRNA-223 functions as an oncogene in human gastric cancer by targeting FBXW7/hCdc4. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2012;138:763–74.
32. Kurozumi A, Goto Y, Matsushita R, et al. Tumor-suppressive microRNA-223 inhibits cancer cell migration and invasion by targeting ITGA3/ITGB1 signaling in prostate cancer. *Cancer Sci*. 2016;107:84–94.
33. Sugita S, Yoshino H, Yonemori M, et al. Tumor-suppressive microRNA-223 targets WDR62 directly in bladder cancer. *Int J Oncol*. 2019;54:2222–36.
34. Tang Y, Wang Y, Chen Q, et al. MiR-223 inhibited cell metastasis of human cervical cancer by modulating epithelial-mesenchymal transition. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015;8:11224–9.
35. Wong QW-L, Lung RW-M, Law PT-Y, et al. MicroRNA-223 is commonly repressed in hepatocellular carcinoma and potentiates expression of Stathmin1. *Gastroenterology*. 2008;135:257–69.
36. Liu J, Li M, Liu X, et al. miR-27a-3p promotes the malignant phenotypes of osteosarcoma by targeting ten-eleven translocation 1. *Int J Oncol*. 2018;52:1295–304.
37. Zhao N, Sun H, Sun B, et al. miR-27a-3p suppresses tumor metastasis and VM by down-regulating VE-cadherin expression and inhibiting EMT: an essential role for Twist-1 in HCC. *Sci Rep*. 2016;6:23091.
38. Liao K, Zhang X, Liu J, et al. The role of platelets in the regulation of tumor growth and metastasis: the mechanisms and targeted therapy. *MedComm*. 2023;4:e350.
39. Liu X, Pan B, Sun L, et al. Circulating Exosomal miR-27a and miR-130a Act as Novel Diagnostic and Prognostic Biomarkers of Colorectal Cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. 2018;27:746–54.
40. Liu R, Kong W, Zheng S, et al. Prognostic significance of microRNA miR-24 in cancers: a meta-analysis. *Bioengineered*. 2021;12:450–60.
41. Huang J, Zhang Q, Ge Y, et al. Serum microRNA-24-based nomogram predicts prognosis for patients with resected pancreatic cancer. *Sci Rep*. 2025;15:8159.
42. Wang S, Liu N, Tang Q, et al. MicroRNA-24 in Cancer: A Double Side Medal With Opposite Properties. *Front Oncol*. 2020;10:553714.



Руденкова Т.В.<sup>1</sup>✉, Костюк С.А.<sup>1</sup>, Климкович Н.Н.<sup>1</sup>, Козич Ж.М.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

<sup>2</sup> Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, Гомель, Беларусь

## Распространенность однонуклеотидных полиморфизмов в генах ATM и DIS3 у пациентов с плазмоклеточными новообразованиями

**Конфликт интересов:** не заявлен.

**Вклад авторов:** Руденкова Т.В. – дизайн исследования, проведение лабораторных тестов, сбор данных, анализ и интерпретация результатов, подготовка статьи; Костюк С.А. – дизайн исследования, анализ и интерпретация результатов, подготовка статьи; Климкович Н.Н. – дизайн исследования, сбор данных, анализ и интерпретация результатов, подготовка статьи; Козич Ж.М. – дизайн исследования, сбор данных, подготовка статьи.

Подана: 03.10.2025

Принята: 02.04.2026

Контакты: t.rudenkova@mail.ru

### Резюме

**Цель.** Изучить распространенность однонуклеотидных полиморфизмов в генах ATM и DIS3 у пациентов со множественной миеломой и моноклональной гаммапатией неустановленного значения.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 157 пациентов с плазмоклеточными новообразованиями (97 со множественной миеломой, 60 – с моноклональной гаммапатией неустановленного значения). ДНК выделяли из костного мозга пациентов. Использовали метод ПЦР с анализом длины фрагментов рестрикции и метод ПЦР с анализом кривых плавления для выявления в гене ATM полиморфизмов rs189037 (с.–111G>A); rs228590 (с.49238C>T); rs1801516 (с.5557G>A) и в гене DIS3 полиморфизмов rs1160840972 (с.1490A>G); rs2138206374 (с.1463C>T); rs2138153318 (с.2338T>C).

**Результаты.** Среди пациентов с плазмоклеточными новообразованиями установлен высокий уровень распространенности полиморфизмов в гене ATM (выше 80% в каждой группе). Для гена DIS3 среди обследованных групп пациентов установлена распространенность полиморфизмов на уровне 10–12%. Для полиморфизма rs228590 (с.49238C>T) в гене ATM среди обследованных пациентов были зарегистрированы наиболее высокие значения распространенности мутантной аллели T (43,81–45,00%), а также гетерозиготного СТ- (52,58–56,67%) и мутантного ТТ- (16,67–17,53%) генотипов. В гене DIS3 ни для одного из изученных полиморфизмов не было выявлено присутствия гомозиготного генотипа по мутантной аллели. Доля гетерозиготных генотипов составила от 1,67 до 5,15%. Достоверных отличий по частоте выявления однонуклеотидных замен в генах ATM и DIS3 между группами пациентов со множественной миеломой и моноклональной гаммапатией неустановленного значения выявлено не было ( $p>0,05$ ).



**Заключение.** У пациентов с плазмоклеточными новообразованиями установлена широкая распространенность нуклеотидных замен в гене ATM с частотой мутантных аллелей от 17,01 до 45,00%. Распространенность нуклеотидных замен в гене DIS3 среди обследованных групп пациентов была эквивалентна средним показателям распространенности подобных генетических изменений среди пациентов с плазмоклеточными новообразованиями в европейских популяциях с частотой мутантных аллелей от 0,83 до 2,58%.

**Ключевые слова:** плазмоклеточные новообразования, множественная миелома, моноклональная гаммапатия неустоановленного значения, полиморфизм, ATM, DIS3

Rudenkova T.<sup>1</sup>✉, Kostiuk S.<sup>1</sup>, Klimkovich N.<sup>1</sup>, Kozich J.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

<sup>2</sup> Republican Scientific and Practical Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Belarus

## Prevalence of Single Nucleotide Polymorphisms in the ATM and DIS3 Genes in Patients with Plasma Cell Neoplasms

**Conflict of interest:** nothing to declare.

**Authors' contribution:** Rudenkova T. – study design, performing laboratory tests, data collection, results analysis and interpretation, article preparation; Kostiuk S. – study design, results analysis and interpretation, article preparation; Klimkovich N. – study design, data collection, results analysis and interpretation, article preparation; Kozich J. – study design, data collection, article preparation.

Submitted: 03.10.2025

Accepted: 02.04.2026

Contacts: t.rudenkova@mail.ru

### Abstract

**Purpose.** To investigate the prevalence of single nucleotide polymorphisms in the ATM and DIS3 genes in patients with multiple myeloma and monoclonal gammopathy of undetermined significance.

**Materials and methods.** The study included 157 patients with plasma cell neoplasms (97 with multiple myeloma and 60 with monoclonal gammopathy of undetermined significance). DNA was isolated from the patients' bone marrow. The PCR method with restriction fragment length analysis and the PCR method with melting curve analysis were used to detect the following polymorphisms in the ATM gene: rs189037 (c.-111G>A); rs228590 (c.49238C>T); rs1801516 (c.5557G>A) and in the DIS3 gene: rs1160840972 (c.1490A>G); rs2138206374 (c.1463C>T); and rs2138153318 (c.2338T>C).

**Results.** A high prevalence of polymorphisms in the ATM gene (above 80% in each group) was established among patients with plasma cell neoplasms. For the DIS3 gene, the prevalence of polymorphisms among the examined patient groups was established at the level of 10–12%. For the rs228590 (c.49238C>T) polymorphism in the ATM gene, the highest prevalence values of the mutant T allele (43.81–45.00%), as well as heterozygous CT (52.58–56.67%) and mutant TT (16.67–17.53%) genotypes were recorded among the

examined patients. In the DIS3 gene, the presence of a homozygous genotype for the mutant allele was not detected for any of the studied polymorphisms. The prevalence of heterozygous genotypes ranged from 1.67% to 5.15%. No significant differences in the frequency of single nucleotide substitutions detection in the ATM and DIS3 genes were found between the groups of patients with multiple myeloma and monoclonal gammopathy of undetermined significance ( $p>0.05$ ).

**Conclusion.** In patients with multiple myeloma and monoclonal gammopathy of undetermined significance, a high prevalence of nucleotide substitutions in the ATM gene was established, with a frequency of mutant alleles from 17.01% to 45.00%. The prevalence of nucleotide substitutions in the DIS3 gene among the examined patient groups was equivalent to the average prevalence of similar genetic changes among patients with plasma cell neoplasms in European populations, with a frequency of mutant alleles from 0.83% to 2.58%.

**Keywords:** plasma cell neoplasms, multiple myeloma, monoclonal gammopathy of undetermined significance, polymorphism, ATM, DIS3

---

## ■ ВВЕДЕНИЕ

Плазмноклеточные новообразования представляют собой клинически и генетически гетерогенную группу заболеваний, к которым относят предраковую моноклональную гаммапатию неустановленного значения (МГНЗ), множественную миелому (ММ), первичный системный амилоидоз легких цепей, болезнь Вальденстрема, POEMS-синдром (Polyneuropathy, Organomegaly, Endocrinopathy, M-protein, and Skin Changes), экстрамедуллярную плазмцитому и др. Неоднородность генетических характеристик опухолевых клеток, даже внутри каждой из нозологических форм, является значительным препятствием при поиске надежных молекулярно-генетических критериев для дифференциальной диагностики и определения прогноза течения заболевания [1].

Белок ATM (ataxia telangiectasia mutated) является протеинкиназой, которая первоначально была выделена и охарактеризована у пациентов с редким аутосомно-рецессивным заболеванием – атаксией-телеангиэктазией (АТ). Кроме типичных для атаксии-телеангиэктазии клинических проявлений, таких как мозжечковая атаксия, нейродегенерация, хореоатетоз, окуломоторная апраксия, телеангиэктазии конъюнктивы, иммунодефицит, радиочувствительность, у данного контингента пациентов также повышен риск развития инфекционных заболеваний и злокачественных новообразований [2, 3].

Двухцепочечные разрывы в молекуле ДНК, при которых повреждение затрагивает обе нити двойной спирали, представляют серьезную угрозу для целостности эукариотического генома, поэтому в клетках эукариот существуют системы белков, которые активируются при повреждении генетического материала и обеспечивают восстановление генетической информации, поддерживая тем самым целостность генома, устраняя накопление и передачу ошибок при делении клеток, что является одним из факторов, предотвращающих злокачественную трансформацию. После повреждения ДНК в клетках происходит запуск каскада реакций, направленных



на распознавание поврежденного участка цепи ДНК, привлечение репарационных белков, передачу сигналов контрольным точкам клеточного цикла, регуляцию и активацию апоптоза [4, 5].

Белок ATM массой 350 кДа, состоящий из 3056 аминокислот, является членом семейства серин/треониновых протеинкиназ ((PI)3/PI4-киназ) и играет ключевую роль при ответе на повреждение ДНК, в том числе при двухцепочечных разрывах спирали. После появления дефекта в молекуле ДНК MRN-комплекс, состоящий из белков Mre11, RAD50 и NBS1, запускает канонический путь активации белка ATM, способствуя переходу неактивных форм ATM (димеры или мультимерные комплексы) посредством аутофосфорилирования в высокоактивные мономеры, и далее опосредует взаимодействие активированных мономеров ATM с концевыми участками поврежденной ДНК и с молекулами, привлекаемыми для репарации поврежденного фрагмента [5–7].

Ген ATM расположен на 11-й хромосоме (11q22-23) и имеет длину 150 000 п. о. Длина кодирующей последовательности гена значительно меньше, она составляет 9168 п. о. и включает 66 экзонов, которые распределены по всей протяженности гена, из них 62 экзона кодируют аминокислотную последовательность белка ATM. Изменения, которые оказывают влияние на структуру и функции белка ATM, могут происходить как в транслируемой области гена, так и в интронных и нетранслируемых участках [2, 5, 8].

В гене ATM с применением современных молекулярно-генетических методов анализа (NGS – next generation sequencing – технологии секвенирования нового поколения) идентифицировано более 10 000 однонуклеотидных замен, из которых более 1900 отнесены к патогенным или потенциально клинически значимым изменениям. Больше половины изученных патогенных генетических вариантов ассоциировано с образованием укороченного белка за счет появления стоп-кодонов в начале или середине кодирующей последовательности гена. Дефекты структуры белка ATM приводят к нарушению его способности распознавать двухцепочечные разрывы спирали ДНК, в результате чего клетки теряют возможность восстанавливать поврежденные участки молекулы ДНК, что приводит к ослаблению репаративных свойств, снижению стабильности генома и увеличению риска малигнизации. К другим распространенным нарушениям в гене ATM относят миссенс-мутации, сдвиги рамки считывания, нарушения сплайсинга, которые также оказывают влияние на структуру и функции белка ATM [2, 5, 9–11].

Доказана ассоциация как герминальных, так и соматических мутаций в гене ATM с широким спектром злокачественных новообразований. У носителей ряда мутаций зарегистрировано значительное увеличение относительного риска развития рака молочной железы, яичников, поджелудочной железы, желудка, простаты, что подтверждает роль ATM как гена – супрессора опухолевого роста [2, 5, 10, 11].

Результаты исследований, проведенных в различных странах и направленных на изучение вариаций нуклеотидной последовательности в гене ATM при различных патологических процессах, зачастую отличаются, так как анализ проводится в различных расовых, этнических и популяционных группах, в которых частота полиморфизмов значительно варьирует. В европейских популяциях распространенность патологически значимых мутаций в гене ATM оценивается на уровне от 0,5 до 10%, однако гомозиготность по данным мутациям встречается редко (0,005–0,1%) [5, 9–11].

Ген DIS3, расположенный на 13-й хромосоме (13q22.1), кодирует белок каталитической субъединицы первичного эукариотического ядерного рибонуклеазного экзосомного комплекса, участвующего в метаболизме различных видов РНК. Продукт данного гена – белок DIS3 – представляет собой многодоменный белок с 2 различными каталитическими центрами, которые обеспечивают 2 вида его активности: 3'-5'-экзонуклеазную активность, которую опосредует домен РНКазы II/R (RNB-домен), и эндонуклеазную активность, которая реализуется через домен N-конца PiIT (PIN-домен). Наличие этих 2 доменов поддерживает функциональную активность каталитической субъединицы экзосомы, в составе которой белок DIS3 участвует в созревании молекул РНК, 3'-5'-редактировании РНК, деградации РНК как в ядре, так и в цитоплазме клеток, контроле качества мРНК, регуляции экспрессии генов, процессинге малых РНК, а также сегрегации хромосом, прогрессировании клеточного цикла, сборке веретена деления [12–15].

Несмотря на большой объем работ по характеристике структурных и биохимических особенностей белка DIS3, включая детальное изучение его роли как эффектора процессинга и деградации РНК, пока нет четкого понимания механизма, посредством которого изменения в гене DIS3 могут приводить к злокачественной трансформации клеток. Считается, что ключевыми являются изменения, происходящие преимущественно в тех участках нуклеотидной последовательности гена DIS3, которые контролируют структуру RNB-домена, что приводит к ингибированию экзонуклеазной активности фермента. Еще одним механизмом участия гена DIS3 в онкогенезе считается нарушение программ посттранскрипционной регуляции экспрессии генов, что способствует усилению пролиферации клеток. Для ряда полиморфизмов в гене DIS3 установлена ассоциация с возникновением транслокаций, которые выступают драйверами для злокачественной трансформации клеток. Нарушение нормального функционирования белка DIS3 приводит к накоплению дефектных молекул РНК, изменению профилей экспрессии генов в клетках, способствует накоплению генетических aberrаций, увеличивая риск злокачественной трансформации [15–18].

Изменение структуры и функций белка DIS3 влечет за собой формирование дефектов в процессах синтеза и деградации РНК, нарушая нормальное функционирование клеток, за счет накопления естественных субстратов экзосом в клетках. Это, с одной стороны, способствует злокачественной трансформации клеток, а с другой – отрицательно влияет на выживаемость клеток, что приводит к снижению их пролиферации и выходу в минорные субклоны. Таким образом, ген DIS3, изменения в котором приводят к нарушению метаболизма РНК, является неклассическим онкогеном, который способствует прогрессированию онкогенеза на ранних стадиях, но в итоге из-за серьезных нарушений метаболизма РНК вызывает отрицательную селекцию клеток-носителей, выступая в качестве супрессора [12, 16, 19].

Противоречивые данные получены и при оценке стадии онкогенеза, на которой изменения в гене DIS3 оказывают критическое влияние и играют ключевую роль. Считается, что изменения в генах, кодирующих белки-регуляторы, являются вторичными генетическими событиями. Однако у пациентов с доброкачественными новообразованиями, в том числе на ранних стадиях, при первичной трансформации клеток было показано наличие изменений в гене DIS3 [12, 15, 16].

Усилия многих исследователей в разных странах, направленные на изучение молекулярно-генетических маркеров, ассоциированных с ММ и МГНЗ, позволили



выявить большой перечень генов, которые несут нуклеотидные замены при данных заболеваниях. Однако частота большинства выявленных генетических событий не превышает 10%. Изучение изменений в генах, регулирующих процессы репарации ДНК (ATM) и метаболизма РНК (DIS3) в клетках, является одним из перспективных направлений поиска диагностических и прогностических маркеров при ММ и МГНЗ. Вместе с тем нужно учитывать, что необходимо проведение детальных исследований в изучаемой популяции, поскольку частота и спектр изменений нуклеотидных последовательностей генов могут иметь существенные различия при проведении исследований на различных выборках пациентов в зависимости от расовой и этнической принадлежности.

## ■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить частоту встречаемости у пациентов со множественной миеломой и моноклональной гаммапатией неустоановленного значения однонуклеотидных полиморфизмов в генах ATM (rs189037; rs228590; rs1801516) и DIS3 (rs1160840972; rs2138206374; rs2138153318).

## ■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В основную группу исследования были включены 157 пациентов с плазмоклеточными новообразованиями: из них 97 – с диагнозом «множественная миелома» (ММ) и 60 – с диагнозом «моноклональная гаммапатия» неустоановленного значения (МГНЗ), проходивших обследование в ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ» (г. Гомель). Медиана возраста пациентов с ММ составила 64 года (53,0–76,0), пациентов с МГНЗ – 61,0 года (55,0–66,0). Достоверных отличий по возрасту между группами пациентов с ММ и МГНЗ не было установлено ( $p=0,303$ ).

Основными критериями включения пациентов в исследование являлись: возраст пациентов; диагноз С90.0 или D47.2, установленный согласно международным критериям IMWG (2014 г.).

В ходе обследования пациентов применялись клинико-инструментальные методы: осмотр пациентов, сбор анамнестических данных, лабораторные и инструментальные методы исследования. В качестве биологического материала для выполнения молекулярно-генетических исследований у пациентов проводили взятие 2–3 мл костного мозга методом аспирационной биопсии.

ДНК из костного мозга выделяли с использованием коммерческого набора реагентов «АртСпин Эксперт» («АртБиоТех», РБ). Выделенную ДНК использовали для амплификации фрагментов генов ATM и DIS3, в которых выявляли наличие однонуклеотидных замен.

В гене ATM выявляли полиморфизмы: rs189037 (с.-111G>A); rs228590 (с.49238C>T); rs1801516 (с.5557G>A).

В гене DIS3 выявляли полиморфизмы: rs1160840972 (с.1490A>G); rs2138206374 (с.1463C>T); rs2138153318 (с.2338T>C).

Для амплификации всех изучаемых фрагментов генов был подобран универсальный состав амплификационной смеси: 12,5 мкл «ArtMix ДНК-полимераза» («АртБиоТех», РБ); 0,2 мкл смеси эквивалентных концентраций прямого и обратного праймеров (100 мкмоль/л); 0,6 мкл красителя ZuberGreen для ПЦР-РВ («Праймтех», РБ); 8,7 мкл

**Таблица 1**  
**Последовательности праймеров и методы анализа фрагментов генов ATM и DIS3**  
**Table 1**  
**Primer sequences and methods for analyzing ATM and DIS3 genes fragments**

Ген, № rs	Замена	Последовательность праймера	Температура отжига	Метод анализа
ATM, rs189037	c.-111G>A	F-GCTGCTTGGCGTTGCTTC	64	Рестрикция
		R-CATGAGATTGGCGGTCTGG		
ATM, rs228590	c.49238C>T	F-CAGAGCGAGACTGTCTCAAACA	63	Рестрикция
		R-AAGTCAGAAGAACCACCAGTGAATTT		
ATM, rs1801516	c.5557G>A	F-AGATGGCTCTGATTCTTCTCCT	57	Плавление
		R-GCGGAAGTTGTAATAGTGTGGG		
DIS3, rs1160840972	c.1490A>G	F-GCGGAGTAACTGAGAGATGAAAG	60	Плавление
		R-CAGGTAGATCAAACACAATAGATG		
DIS3, rs2138206374	c.1463C>T	F-TATGTTGAGTTGTGCTTTGGAAAT	57	Плавление
		R-CAATATGCTTGACTGGGTAATGTA		
DIS3, rs2138153318	c.2338T>C	F-GCCGAATCTCCTACTTTTCCA	55	Плавление
		R-CCAAAAGCCGATGAACAATGA		

деионизированной воды; 3 мкл выделенной ДНК. Общий объем амплификационной смеси составил 25 мкл.

Амплификацию ДНК проводили с применением специфических пар праймеров (прямого (F – forward) и обратного (R – reverse)) [2, 20–22] методами рестрикционного анализа и анализа кривых плавления высокого разрешения (табл. 1). Амплификацию выполняли с использованием прибора QuantStudio™ (Thermo Fisher Scientific).

После этапа амплификации для анализа полиморфизмов rs189037 и rs228590 в гене ATM проводили этап рестрикции с использованием ферментов MscI (rs189037) и DraI (rs228590) («СибЭнзим», РФ), а затем анализ результатов методом электрофореза ампликонов в 3%-м агарозном геле. Для выявления полиморфизмов rs1801516, rs1160840972, rs2138206374, rs2138153318 проводили анализ кривых плавления высокого разрешения.

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли с использованием компьютерной программы Statistica 10. Для категориальных признаков статистический анализ проводили с помощью критерия  $\chi^2$  Пирсона. При уровне значимости  $p < 0,05$  различия считались статистически достоверными. Для описания частоты выявления признака приводили абсолютные (n) и относительные (%) значения. Доверительный интервал вычисляли по методу Уилсона (Wilson CI for proportion).

## ■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе молекулярно-генетических исследований были изучены образцы биологического материала 157 пациентов с плазмоклеточными новообразованиями (ММ и МГНЗ). Полученные результаты, характеризующие общую частоту выявления однонуклеотидных замен в генах ATM и DIS3 у обследованных пациентов с ММ и МГНЗ, представлены в табл. 2.

Для гена ATM установлен высокий уровень распространенности полиморфизмов среди пациентов с ММ и МГНЗ – выше 80% в каждой группе. Для гена DIS3 среди



**Таблица 2**

**Частота выявления однонуклеотидных замен в генах ATM и DIS3 у пациентов с плазмоклеточными новообразованиями (n=157)**

**Table 2**

**Frequency of single nucleotide substitutions in the ATM and DIS3 genes in patients with plasma cell neoplasms (n=157)**

Ген, № rs	Распространенность полиморфизмов				Значения $\chi^2$ и p
	Пациенты с ММ (n=97)		Пациенты с МГНЗ (n=60)		
	n	% (95% ДИ)	n	% (95% ДИ)	
ATM rs189037; rs228590; rs1801516	81	83,51 (75,19; 89,86)	51	85,00 (74,41; 92,31)	$\chi^2=0,53$ ; p=0,72
DIS3 rs1160840972; rs2138206374; rs2138153318	12	12,37 (4,22; 23,11)	6	10,00 (1,21; 23,10)	$\chi^2=0,76$ ; p=0,61

обследованных групп пациентов установлена распространенность полиморфизмов на уровне 10–12%. Достоверных отличий по частоте выявления однонуклеотидных замен в генах ATM и DIS3 между группами пациентов с ММ и МГНЗ выявлено не было ( $p>0,05$ ).

Результаты, характеризующие частоту выявления различных геновариантов и аллелей в гене ATM (rs189037 (с.–111G>A); rs228590 (с.49238C>T); rs1801516 (с.5557G>A)) среди пациентов с ММ и МГНЗ, представлены в табл. 3.

В ходе анализа результатов, полученных при изучении частоты выявления полиморфизма rs189037 (с.–111G>A) в гене ATM, в группах пациентов с ММ и МГНЗ доминирующими оказались дикий GG- и гетерозиготный GA-генотипы. В обеих группах распространенность гомозиготного GG-геноварианта составила более 50%. Для гетерозиготного генотипа GA распространенность составила 43,33–45,36%, для мутантного генотипа AA – 1,03–3,33% случаев. Общая доля мутантной аллели A в составе гетерозиготных и мутантных генотипов составила 23,71% у пациентов с ММ и 25,00% у пациентов с МГНЗ. Достоверных отличий по частоте выявления полиморфизма rs189037 (с.–111G>A) в гене ATM, а также по частоте выявления мутантной аллели A между группами пациентов с ММ и МГНЗ выявлено не было ( $p>0,05$ ).

Среди обследованных пациентов при оценке распространенности полиморфизма rs228590 (с.49238C>T) в гене ATM доминирующим был гетерозиготный генотип СТ, частота которого в обеих группах пациентов была выше 50%. Для дикого генотипа СС распространенность в группах обследованных пациентов составила 26,67–29,90%. Частота выявления мутантного генотипа ТТ была высокой (более 15%) в обеих группах пациентов и составила 16,67–17,53% случаев. Общая доля мутантной аллели Т в составе гетерозиготных и мутантных генотипов составила 43,81% у пациентов с ММ и 45,00% у пациентов с МГНЗ. Достоверных отличий по частоте выявления полиморфизма rs228590 (с.49238C>T) в гене ATM, а также по частоте выявления мутантной аллели Т между группами пациентов с ММ и МГНЗ выявлено не было ( $p>0,05$ ).

Изучение распространенности полиморфизма rs1801516 (с.5557G>A) в гене ATM у обследованных пациентов позволило установить, что доминирующим был дикий генотип GG, частота которого в обеих группах пациентов была выше 60%.

**Таблица 3**  
**Результаты выявления полиморфных вариантов гена ATM у пациентов с плазмоклеточными новообразованиями (n=157)**  
**Table 3**  
**Results of the ATM gene polymorphic variants detection in patients with plasma cell neoplasms (n=157)**

Полиморфизм	Генотип/ аллель	Распространенность полиморфизма				Значения $\chi^2$ и p
		Пациенты с ММ (n=97)		Пациенты с МГНЗ (n=60)		
		n	% (95% ДИ)	n	%	
rs189037 c.-111G>A	Генотип					$\chi^2=0,29$ p=0,78
	GG	52	53,61 (43,70; 63,30)	32	53,33 (40,80; 65,55)	
	GA	44	45,36 (35,71; 55,28)	26	43,33 (31,35; 55,94)	
	AA	1	1,03 (0,18; 5,61)	2	3,33 (0,92; 11,36)	
	Аллель	n=194		n=120		
	G	148	76,29 (69,83; 81,73)	90	75,00 (66,56; 81,89)	
A	46	23,71 (18,27; 30,17)	30	25,00 (18,11; 33,44)	$\chi^2=0,41$ p=0,67	
rs228590 c.49238C>T	Генотип					$\chi^2=0,79$ p=0,61
	CC	29	29,90 (18,62; 41,85)	16	26,67 (14,51; 38,45)	
	CT	51	52,58 (42,69; 62,32)	34	56,67 (44,06; 68,25)	
	TT	17	17,53 (8,26; 30,11)	10	16,67 (5,22; 28,34)	
	Аллель	n=194		n=120		
	C	109	56,19 (49,15; 62,98)	66	55,00 (46,08; 63,61)	
T	85	43,81 (37,02; 50,85)	54	45,00 (36,39; 53,92)	$\chi^2=0,42$ p=0,91	
rs1801516 c.5557G>A	Генотип					$\chi^2=0,33$ p=0,85
	GG	65	67,01 (56,91; 78,25)	39	65,00 (53,61; 74,53)	
	GA	31	31,96 (19,27; 43,52)	20	33,33 (21,18; 45,51)	
	AA	1	1,03 (0,56; 4,24)	1	1,67 (0,22; 5,02)	
	Аллель	n=194		n=120		
	G	161	82,99 (77,07; 87,62)	98	81,67 (73,80; 87,57)	
A	33	17,01 (12,38; 22,93)	22	18,33 (12,43; 26,20)	$\chi^2=0,17$ p=0,87	

Для гетерозиготного генотипа GA распространенность составила 31,96–33,33% случаев. Мутантный генотип AA был выявлен в 1,03–1,67% случаев. Общая доля мутантной аллели A в составе гетерозиготных и мутантных генотипов составила 43,81% у пациентов с ММ и 45,00% у пациентов с МГНЗ. Достоверных отличий по частоте выявления полиморфизма rs1801516 (c.5557G>A) в гене ATM, а также по частоте обнаружения мутантной аллели A между группами пациентов с ММ и МГНЗ выявлено не было (p>0,05).

Полиморфизм rs189037 (c.-111G>A) приводит к образованию дополнительного сайта связывания транскрипционного ингибитора в промоторе гена ATM и таким образом влияет на экспрессию мРНК. Полиморфизм rs1801516 (c.5557G>A) расположен в 39-м экзоне гена ATM и влечет изменение аминокислоты в позиции 1853 (Asp1853Asn, D1853N) белка ATM. Этот полиморфизм был описан как влияющий на экзонный энхансер сплайсинга, что предполагает возможное изменение нормального сплайсинга 39-го экзона гена ATM и, следовательно, выработку белка с измененной структурой и функциями. Полиморфизм rs228590C>T локализуется в интроне 1-го гена ATM и, по современным представлениям, влияет на связывание некоторых факторов транскрипции, затрудняя синтез мРНК, снижая уровень экспрессии гена и в конечном итоге снижая активность белка ATM [20, 23–25].



По данным различных исследований, для полиморфизмов rs189037 (с.-111G>A), rs228590 (с.49238C>T) и rs1801516 (с.5557G>A) в гене ATM средняя частота минорной аллели среди представителей европейских популяций составляет 0,5–10%. Анализ данных, полученных в ходе проведенного исследования, позволил установить высокий уровень частоты полиморфизмов (rs189037 (с.-111G>A); rs228590 (с.49238C>T); rs1801516 (с.5557G>A)) в гене ATM (до 20% в составе мутантных генотипов и до 70% в составе гетерозиготных генотипов), а также высокую частоту мутантных аллелей (от 17,01 до 45,00%) в гене ATM среди пациентов с ММ и МГНЗ. Наиболее высокая частота как для мутантной аллели (43,81–45,00%), так и для гетерозиготного (52,58–56,67%) и мутантного (16,67–17,53%) генотипов у обследованных пациентов была зарегистрирована для полиморфизма rs228590 (с.49238C>T).

Результаты, характеризующие частоту выявления различных геновариантов и аллелей в гене DIS3 (rs1160840972 (с.1490A>G); rs2138206374 (с.1463C>T); rs2138153318 (с.2338T>C)) у пациентов с ММ и МГНЗ, представлены в табл. 4.

Ни для одного из изученных полиморфизмов в гене DIS3 (rs1160840972 (с.1490A>G); rs2138206374 (с.1463C>T); rs2138153318 (с.2338T>C)) не было выявлено присутствия гомозиготного генотипа по мутантной аллели. Для всех изученных полиморфизмов

**Таблица 4**  
**Результаты выявления полиморфных вариантов гена DIS3 у пациентов с плазмноклеточными новообразованиями (n=157)**

**Table 4**  
**Results of the DIS3 gene polymorphic variants detection in patients with plasma cell neoplasms (n=157)**

Полиморфизм	Генотип/аллель	Распространенность полиморфизма				Значения $\chi^2$ и p
		Пациенты с ММ (n=97)		Пациенты с МГНЗ (n=60)		
		n	% (95% ДИ)	n	% (95% ДИ)	
rs1160840972 с.1490A>G	Генотип					
	AA	94	96,91 (91,98; 99,12)	59	98,33 (90,78; 99,25)	$\chi^2=0,49$ p=0,68
	AG	3	3,09 (0,88; 7,02)	1	1,67 (0,18; 7,53)	
	GG	0	0,00	0	0,00	
	Аллель	n=194		n=120		
	A	191	98,45 (95,55; 99,47)	119	99,17 (95,43; 99,85)	$\chi^2=0,41$ p=0,85
G	3	1,55 (0,53; 4,45)	1	0,83 (0,15; 4,57)		
rs2138206374 с.1463C>T	Генотип					
	CC	93	95,88 (90,77; 99,18)	58	96,67 (90,14; 99,17)	$\chi^2=0,69$ p=0,91
	CT	4	4,12 (0,96; 10,27)	2	3,33 (0,42; 9,37)	
	TT	0	0,00	0	0,00	
	Аллель	n=194		n=120		
	C	190	97,94 (94,82; 99,20)	118	98,33 (94,13; 99,54)	$\chi^2=0,32$ p=0,77
T	4	2,06 (0,80; 5,18)	2	1,67 (0,46; 5,87)		
rs2138153318 с.2338T>C	Генотип					
	TT	92	94,85 (89,64; 99,04)	57	95,00 (88,47; 99,01)	$\chi^2=0,23$ p=0,95
	TC	5	5,15 (0,98; 10,71)	3	5,00 (0,72; 11,07)	
	CC	0	0,00	0	0,00	
	Аллель	n=194		n=120		
	T	189	97,42 (94,11; 98,89)	117	97,50 (92,91; 99,15)	$\chi^2=0,17$ p=0,94
C	5	2,58 (1,11; 5,89)	3	2,50 (0,85; 7,09)		

доминирующими были дикие генотипы, распространенность которых в обеих группах пациентов составила более 90%. Доля гетерозиготных генотипов составила от 1,67 до 5,15%. Доля мутантных аллелей в составе гетерозиготных генотипов составила от 0,83 до 2,58%. Достоверных отличий по частоте выявления полиморфизмов rs1160840972 (с.1490A>G); rs2138206374 (с.1463C>T); rs2138153318 (с.2338T>C) в гене DIS3, а также по частоте выявления мутантных аллелей между группами пациентов с ММ и МГНЗ выявлено не было ( $p>0,05$ ).

Предполагается, что у пациентов с плазмноклеточными новообразованиями, кроме транслокаций локуса тяжелых цепей иммуноглобулина, которые считаются ранними драйверами при возникновении ММ, изменения происходят преимущественно в тех участках нуклеотидной последовательности гена DIS3, которые контролируют структуру RNB-домена, что приводит к ингибированию экзонуклеазной активности фермента. Нарушение программ посттранскрипционной регуляции экспрессии гена DIS3 способствует усилению пролиферации клеток, особенно В-лимфоцитов, вызывая прогрессирование заболевания [15–18].

К горячим точкам в гене DIS3 относят участки нуклеотидной последовательности, контролирующей экспрессию самого гена, а также приводящие к аминокислотным заменам в высококонсервативных регионах: аргинина в позиции 780 (rs2138153318, с.2338T>C; p.Arg780Gly; R780K) аминокислотной последовательности, аспарагиновой кислоты в позиции 488 (rs2138206374, с.1463C>T; p.Asp488Gly; D488N) и аспарагина в позиции 479 (rs1160840972, с.1490A>G; p.Asn479Ser; D479H). Все эти кодоны находятся в пределах домена RNB. Данные аллели, как правило, гетерозиготны и присутствуют преимущественно в минорных субклонах опухолевых клеток [12, 14, 16, 17].

По данным литературы, изменения нуклеотидной последовательности гена DIS3, влекущие за собой потерю функции белка DIS3, присутствуют в геноме 2–10% пациентов с МГНЗ и ММ [13, 14, 19]. Анализ данных, полученных в ходе проведенного исследования, позволил установить, что у обследованных пациентов с ММ и МГНЗ уровень частоты изменений в гене DIS3 составлял 10,00–12,37%. Наиболее высокая частота как для мутантной аллели (2,50–2,58%), так и для гетерозиготного генотипа (5,00–5,15%) в гене DIS3 была зарегистрирована для полиморфизма rs2138153318 (с.2338T>C).

## ■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенного исследования у пациентов с ММ и МГНЗ установлена высокая частота нуклеотидных замен в гене ATM (rs189037, rs228590 и rs1801516) как в составе мутантных генотипов (до 20%), так и в составе гетерозиготных генотипов (до 70%), частота мутантных аллелей у обследованных пациентов составила от 17,01 до 45,00%. Частота выявления мутантных аллелей в гене ATM у обследованных пациентов с ММ и МГНЗ была значительно выше показателей, характерных для представителей европейских популяций (5–10%), что подтверждает вовлеченность гена ATM в формирование и развитие патологического процесса при плазмноклеточных новообразованиях.

Частота нуклеотидных замен в гене DIS3 (rs1160840972; rs2138206374; rs2138153318) среди обследованных пациентов с ММ и МГНЗ составила 10,00–12,37%



и была эквивалентна средним показателям распространенности подобных генетических изменений среди пациентов с плазмоклеточными новообразованиями в европейских популяциях (2–10%). Мутантные аллели были выявлены только в составе гетерозиготных генотипов, и их распространенность у обследованных пациентов с ММ и МГНЗ составила от 0,83 до 2,58%. Отсутствие гомозиготных мутантных генотипов в гене DIS3, вероятно, обусловлено тем, что подобные изменения приводят к геномной нестабильности и способствуют быстрой гибели и элиминации клеток с такими генетическими изменениями.

## ■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Kozich Zh., Rudenkova T., Klimkovich N., et al. Clinical characteristics and molecular genetic factors in patients with extramedullary bone lesions. *Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia*. 2025;25(S.1):S902.
2. Wilson T.K., Zishiri O.T. In Silico Design of Quantitative Polymerase Chain Reaction (qPCR) Assay Probes for Prostate Cancer Diagnosis, Prognosis, and Personalised Treatment. *Curr Issues Mol Biol*. 2025;47(4):292. doi: 10.3390/cimb47040292
3. Lee J.H., Paull T.T. Cellular functions of the protein kinase ATM and their relevance to human disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2021;22(12):796–814. doi: 10.1038/s41580-021-00394-2
4. Costa S., Pinto D., Pereira D., et al. DNA repair polymorphisms might contribute differentially on familial and sporadic breast cancer susceptibility: a study on a Portuguese population. *Breast Cancer Res Treat*. 2007;103(2):209–17. doi: 10.1007/s10549-006-9364-z
5. Estiar M.A., Mehdiপুর P. ATM in breast and brain tumors: a comprehensive review. *Cancer Biol Med*. 2018;15(3):210–227. doi: 10.20892/j.issn.2095-3941.2018.0022
6. Bakkenist C.J., Kastan M.B. DNA damage activates ATM through intermolecular autophosphorylation and dimer dissociation. *Nature*. 2003;421(6922):499–506. doi: 10.1038/nature01368
7. Lee J.H. Oxidative stress and the multifaceted roles of ATM in maintaining cellular redox homeostasis. *Redox Biol*. 2024;75:103269. doi: 10.1016/j.redox.2024.103269
8. Boulwood J. Ataxia telangiectasia gene mutations in leukaemia and lymphoma. *J Clin Pathol*. 2001;54(7):512–6. doi: 10.1136/jcp.54.7.512
9. Lavin M.F., Shiloh Y. The genetic defect in ataxia-telangiectasia. *Annu Rev Immunol*. 1997;15:177–202. doi: 10.1146/annurev.immunol.15.1.177
10. Stankovic T., Kidd A.M., Sutcliffe A., et al. ATM mutations and phenotypes in ataxia-telangiectasia families in the British Isles: expression of mutant ATM and the risk of leukemia, lymphoma, and breast cancer. *Am J Hum Genet*. 1998;62(2):334–45. doi: 10.1086/301706
11. Renwick A., Thompson D., Seal S., et al. Breast Cancer Susceptibility Collaboration (UK); Easton DF, Stratton MR, Rahman N. ATM mutations that cause ataxia-telangiectasia are breast cancer susceptibility alleles. *Nat Genet*. 2006;38(8):873–5. doi: 10.1038/ng1837
12. Kuliński T.M., Gewartowska O., Mroczek S., et al. Recurrent Multiple Myeloma DIS3 alleles arise early but are later counter-selected due to toxicity. *bioRxiv*. 2023;07(27):550471. <https://doi.org/10.1101/2023.07.27.550471>
13. Laffleur B., Basu U., Lim J. RNA Exosome and Non-coding RNA-Coupled Mechanisms in AID-Mediated Genomic Alterations. *J Mol Biol*. 2017;429(21):3230–3241. doi: 10.1016/j.jmb.2016.12.021
14. Gritti I., Basso V., Rinchai D., et al. Loss of ribonuclease DIS3 hampers genome integrity in myeloma by disrupting DNA:RNA hybrid metabolism. *EMBO J*. 2022;41(22):e108040. doi: 10.15252/embj.2021108040
15. Ohguchi Y., Ohguchi H. DIS3: The Enigmatic Gene in Multiple Myeloma. *Int J Mol Sci*. 2023;24(4):4079. doi: 10.3390/ijms24044079
16. Todoerti K., Ronchetti D., Favasuli V., et al. DIS3 mutations in multiple myeloma impact the transcriptional signature and clinical outcome. *Haematologica*. 2022;107(4):921–932. doi: 10.3324/haematol.2021.278342
17. Towler B.P., Pashler A.L., Haime H.J., et al. Dis3L2 regulates cell proliferation and tissue growth through a conserved mechanism. *PLoS Genet*. 2020;16(12):e1009297. doi: 10.1371/journal.pgen.1009297
18. Robinson S.R., Oliver A.W., Chevassut T.J., et al. The 3' to 5' Exoribonuclease DIS3: From Structure and Mechanisms to Biological Functions and Role in Human Disease. *Biomolecules*. 2015;5(3):1515–39. doi: 10.3390/biom5031515
19. Aksenova A.Y., Zhuk A.S., Lada A.G., et al. Genome Instability in Multiple Myeloma: Facts and Factors. *Cancers (Basel)*. 2021;13(23):5949. doi: 10.3390/cancers13235949
20. Lopez Guerra J.L., Song Y.P., Nguyen Q.N., et al. Functional promoter rs189037 variant of ATM is associated with decrease in lung diffusing capacity after irradiation for non-small-cell lung cancer. *Chronic Dis Transl Med*. 2018;4(1):59–66. doi: 10.1016/j.cdtm.2018.02.006
21. Vuorinen S.J., Okolicsanyi R.K., Gyimesi M., et al. SDC4-rs1981429 and ATM-rs228590 may provide early biomarkers of breast cancer risk. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2023;149(8):4563–4578. doi: 10.1007/s00432-022-04236-2
22. Bolli N., Biancon G., Moarri M., et al. Analysis of the genomic landscape of multiple myeloma highlights novel prognostic markers and disease subgroups. *Leukemia*. 2018;32(12):2604–2616. doi: 10.1038/s41375-018-0037-9
23. Jiang Y., Chen H.C., Su X., et al. ATM function and its relationship with ATM gene mutations in chronic lymphocytic leukemia with the recurrent deletion (11q22.3-23.2). *Blood Cancer J*. 2016;6(9):e465. doi: 10.1038/bcj.2016.69
24. Shen L., Yin Z., Wu W., et al. Single nucleotide polymorphism in ATM gene, cooking oil fumes and lung adenocarcinoma susceptibility in Chinese female non-smokers: a case-control study. *PLoS One*. 2014;9(5):e96911. doi: 10.1371/journal.pone.0096911
25. Zhao Z.L., Xia L., Zhao C., et al. ATM rs189037 (G>A) polymorphism increased the risk of cancer: an updated meta-analysis. *BMC Med Genet*. 2019;20(1):28. doi: 10.1186/s12881-019-0760-8



Эфендиева Г.М.✉, Азизова Г.И., Багирова С.А., Азизова У.Г.  
Азербайджанский медицинский университет, Баку, Азербайджан

## Состояние метаболических факторов регуляции обмена железа при его функциональном дефиците у пациентов с терминальной стадией хронической болезни почек

**Конфликт интересов:** не заявлен.

**Вклад авторов:** концепция и дизайн исследования – Азизова Г.И.; анализ данных и написание текста – Эфендиева Г.М.; проведение лабораторных анализов и научное редактирование – Багирова С.А., Азизова У.Г.

**Этическое заявление.** Настоящее исследование было одобрено этической комиссией Азербайджанского медицинского университета на основании протокола № 40 от 02.05.2025. Исследование проведено в соответствии с этическими принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (WMA Declaration of Helsinki).

**Финансирование:** исследование проведено без спонсорской поддержки.

Подана: 23.08.2025

Принята: 05.03.2026

Контакты: efendiyeva88@inbox.ru

### Резюме

**Цель.** Оценить состояние и особенности содружественного влияния метаболических факторов регуляции обмена железа при его функциональном дефиците у пациентов с терминальной стадией хронической болезни почек.

**Материалы и методы.** Исследование включало 46 пациентов с терминальной стадией хронической болезни почек (24 женщины и 22 мужчины, средний возраст которых составил  $60,8 \pm 2,2$  года) и 20 практически здоровых лиц контрольной группы. Анализировались показатели содержания гемоглобина, железа, ферритина, трансферрина, насыщения трансферрина железом, гаптоглобина, эритропоэтина, цистатина С, лактоферрина, ферропортина и гепсидина в сыворотке крови.

**Результаты.** У пациентов с тХБП отмечалось значительное повышение уровня креатинина и цистатина С, снижение концентрации гемоглобина, железа, трансферрина и показателя насыщения трансферрина железом, что отражает наличие анемии и функционального дефицита железа. Констатировано значительное возрастание концентрации ферритина, лактоферрина, ферропортина и гепсидина, что указывает на задержку железа в депо и активность воспалительного процесса. Уровень эритропоэтина уменьшился более чем в 2 раза, что свидетельствует о нарушении его синтеза. Корреляционный анализ показал отрицательную связь содержания креатинина с уровнем гемоглобина, железа, трансферрина и эритропоэтина, а также положительную корреляцию с показателем концентрации цистатина С, ферритина, лактоферрина, ферропортина и гепсидина. Сильные взаимосвязи между лактоферрином, ферропортином и гепсидином демонстрируют параллельные изменения при удержании железа и ограничении его использования.

**Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют о том, что нарушение обмена железа, воспаление и снижение эритропоэза взаимосвязаны и являются ключевыми механизмами формирования анемии при тХБП. Комплексный мониторинг этих



биомаркеров может способствовать ранней диагностике заболевания и его и персонализированной терапии.

**Ключевые слова:** хроническая болезнь почек, железо, ферритин, лактоферрин, ферропортин и гепсидин

Efendiyeva G.✉, Azizova G., Baghirova S., Azizova U.  
Azerbaijan Medical University, Baku, Azerbaijan

## Metabolic Factors Regulating Iron Metabolism in Functional Iron Deficiency among Patients with End-Stage Chronic Kidney Disease

**Conflict of interest:** nothing to declare.

**Authors' contribution:** study concept and design – Azizova G.; data analysis and manuscript writing – Efendiyeva G.; laboratory analyses and scientific editing – Baghirova S., Azizova U.

**Ethics statement.** This study was approved by the Ethics Committee of the Azerbaijan Medical University based on protocol No. 40 dated 05/02/2025. The study was conducted in accordance with the ethical principles of the WMA Declaration of Helsinki.

**Funding:** the study had no sponsorship.

Submitted: 23.08.2025

Accepted: 05.03.2026

Contacts: efendiyeva88@inbox.ru

### Abstract

**Purpose.** To evaluate the status and specific features of the combined influence of metabolic factors regulating iron metabolism in functional iron deficiency among patients with end-stage chronic kidney disease.

**Materials and methods.** The study included 46 ESCKD patients (24 women, 22 men; mean age  $60.8 \pm 2.2$  years) and 20 healthy controls. Laboratory analyses assessed hemoglobin, serum iron, ferritin, transferrin, transferrin saturation (TSAT), haptoglobin, erythropoietin, cystatin C, lactoferrin, ferroportin, and hepcidin.

**Results.** ESCKD patients exhibited significantly increased creatinine and cystatin C, decreased hemoglobin, serum iron, transferrin, and TSAT, indicating anemia and functional iron deficiency. A significant increase in ferritin, lactoferrin, ferroportin, and hepcidin levels was revealed, indicating iron retention in storage depots and active inflammatory process. Erythropoietin decreased over twofold, suggesting impaired synthesis. A correlation analysis revealed negative associations between creatinine and hemoglobin, iron, transferrin, and erythropoietin, and positive correlations with cystatin C, ferritin, lactoferrin, ferroportin, and hepcidin. Strong interrelations among lactoferrin, ferroportin, and hepcidin indicate parallel changes in iron retention and restricted utilization.

**Conclusion.** Iron metabolism dysregulation, inflammation, and reduced erythropoiesis interactively contribute to anemia in CKD. Comprehensive monitoring of these biomarkers may facilitate early diagnosis and individualized treatment strategies.

**Keywords:** chronic kidney disease, iron, ferritin, lactoferrin, ferroportin, hepcidin

## ■ ВВЕДЕНИЕ

Современная медицина сталкивается с растущей проблемой диагностики и коррекции функционального дефицита железа у пациентов с терминальной стадией хронической болезни почек (ХБП), находящихся на гемодиализе [1, 2]. Некоторые факторы, такие как снижение всасывания железа, кровопотери, хроническое воспаление, гиперпаратиреоз, применение лекарственных препаратов (ингибиторы АПФ, блокаторы рецепторов ангиотензина II, ацетилсалициловая кислота) и дефицит эритропоэтина либо снижение чувствительности к нему, могут привести к развитию дефицита железа у пациентов с ХБП. По данным различных авторов, распространенность дефицита железа варьирует от 24 до 85%, в зависимости от стадии ХБП [2].

Дефицит железа является распространенным состоянием при ХБП и играет ключевую роль в патогенезе анемии. Анемия, в свою очередь, является одним из наиболее частых и клинически значимых осложнений ХБП [4].

Несмотря на высокую распространенность железодефицитных состояний в этой группе пациентов, традиционные лабораторные тесты, такие как определение уровня сывороточного железа, ферритина и насыщения железом трансферрина, отражающие запасы железа в организме, хотя и обладают высокой диагностической ценностью, но не всегда позволяют адекватно оценить состояние обмена железа. Это связано с наличием воспаления, которое влияет на показатели лабораторных тестов выявления функционального дефицита железа [3, 4]. При функциональном дефиците железа уровень сывороточного железа и ферритина может оставаться нормальным или повышенным, однако при этом в тканях отмечается дефицит железа, что существенно ухудшает прогноз лечения пациентов с тХБП. Включение в диагностический процесс дополнительных биомаркеров, таких как гаптоглобин, гепсидин, ферропортин и лактоферрин, позволяет более точно оценивать состояние обмена железа и своевременно выявлять его функциональный дефицит.

Ферритин является основным показателем запасов железа в организме, однако, будучи белком острой фазы, он не отражает истинное состояние депо железа при хроническом воспалении, в том числе при ХБП [5]. В этих условиях более объективным критерием может служить лабораторный тест определения насыщения трансферрина железом (НТЖ). Снижение НТЖ отражает уменьшение количества доступного железа для эритропоэза и свидетельствует о функциональном дефиците. Трансферрин транспортирует железо в плазме крови, а уровень его насыщения служит маркером функционального статуса железа. Вместе с тем НТЖ также может изменяться при воспалительных состояниях, так как уровень трансферрина снижается при острой фазе воспаления. Следовательно, для правильной оценки диагностической значимости тестов определения ферритина и НТЖ у пациентов с ХБП целесообразно осуществлять аналогичные исследования и у пациентов без хронической патологии почек. У пациентов с ХБП, не получающих диализ, встречаются 2 типа дефицита железа – абсолютный и функциональный, которые оцениваются по уровню ферритина и НТЖ. Абсолютный дефицит определяется как резко сниженные или отсутствующие запасы железа, тогда как функциональный дефицит характеризуется достаточными запасами железа при его недостаточной биодоступности для эритроидных предшественников [6]. Железодефицитная анемия диагностируется у пациентов с ХБП при уровне ферритина ниже 100 мкг/л. При концентрации



ферритина выше 100 мкг/л и содержании гипохромных эритроцитов более 6% либо при НТЖ < 20% диагностируется функциональный дефицит железа [7].

Гаптоглобин связывает свободный гемоглобин, снижая выраженность оксидативного стресса при гемолизе и предотвращая токсическое действие свободного железа. При ХБП его уровень может изменяться в зависимости от выраженности воспаления и гемолиза, что рассматривается как вторичный защитный механизм [8]. Снижение концентрации гаптоглобина при хроническом воспалении и гемолизе может способствовать накоплению свободного железа, усилению воспаления и повышению синтеза гепсидина [9].

Гепсидин – основной гормон регуляции обмен железа, синтезируемый в печени. На его продукцию значительное влияние оказывает эритропоэтин, который стимулирует образование эритроцитов, повышает синтез эритроферрона в эритроблестах, оказывает влияние на снижение экспрессии гепсидина. В нормальных условиях это способствует мобилизации железа из депо и его использованию для эритропоэза. При ХБП снижение синтеза эритропоэтина ведет к уменьшению продукции эритроферрона, что вызывает повышение уровня гепсидина, ограничивающего доступность железа [10]. Гепсидин связывает ферропортин – основной белок – экспортер железа, индуцируя его деградацию. В результате резко снижается абсорбция железа в кишечнике и выход железа из макрофагов и гепатоцитов [10–12]. В дополнение к этому воспалительные цитокины, такие как интерлейкин-6 (IL-6), усиливают синтез гепсидина, усугубляя патологический процесс [3, 4, 13].

Лактоферрин – это гликопротеин, обладающий высокой аффинностью к железу, который секретируется нейтрофилами и эпителиальными клетками. Он способен связывать железо, регулировать воспалительные процессы, снижать экспрессию гепсидина, стимулировать мобилизацию железа из депо и усиливать эритропоэз. Клинические исследования показали, что пероральное применение лактоферрина приводит к значительному снижению уровня гепсидина и повышению концентрации гемоглобина [14]. Кроме того, лактоферрин способен напрямую стимулировать трансферриновые рецепторы, ускоряя поступление железа в клетки.

Исходя из изложенного, выполненное исследование было направлено на оценку показателей лабораторных тестов, характеризующих состояние обмена железа у пациентов с терминальной стадией ХБП и функциональным дефицитом железа, что может способствовать совершенствованию диагностики и повышению эффективности их лечения.

## ■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить состояние и особенности содружественного влияния метаболических факторов регуляции обмена железа при его функциональном дефиците у пациентов с терминальной стадией хронической болезни почек.

## ■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследованию подлежали 46 пациентов с тХБП и функциональным дефицитом железа. Возраст пациентов составлял 19–77 лет ( $60,8 \pm 2,2$  года). Среди них – 24 женщины ( $62,4 \pm 2,8$  года) и 22 мужчины ( $59,0 \pm 3,4$  года). Контрольная группа включала в себя 20 практически здоровых лиц в возрасте 20–75 лет ( $62,5 \pm 1,9$  года). В исследование

были включены пациенты, соответствующие следующим критериям: отсутствие терапии препаратами железа в течение последних 2 недель (включающих в том числе глюконат железа, сорбитолат железа, декстран железа, карбоксимальтозат железа); отсутствие переливаний крови в течение 4 недель; уровень трансферрина сыворотки крови >100 мг/дл. Отбор пациентов проводился на основании электронных медицинских записей и лабораторных данных. Исключались пациенты с активной инфекцией или подвергнутые антибактериальной терапии, с недавними ( $\leq 2$  недель) хирургическими вмешательствами или активным кровотечением, беременные, пациенты, получающие активную химио- или радиотерапию по поводу онкологических заболеваний, а также лица, не давшие согласия на участие в исследовании.

Взятие крови проводилось утром натощак. Лабораторные исследования включали определение гемоглобина (Hb), сывороточного железа, креатинина, ферритина, трансферрина, насыщения трансферрина железом (НТЖ), гаптоглобина, гепсидина, лактоферрина и ферропортина. Все исследования выполнялись согласно стандартным протоколам с использованием аккредитованных анализаторов.

Уровень гемоглобина в сыворотке крови определялся на полностью автоматическом анализаторе фирмы Sysmex. Концентрации сывороточного железа, общая железосвязывающая способность сыворотки (ОЖСС) и креатинина определялись биохимическими методами с использованием наборов фирмы Human (Германия).

После определения ОЖСС и концентрации железа латентная железосвязывающая способность сыворотки (ЛЖСС) рассчитывалась по формуле:

$$\text{ЛЖСС} = \text{ОЖСС} - \text{сывороточное железо.}$$

Для определения степени насыщения трансферрина железом в сыворотке крови использовалась следующая формула:

$$\text{ТСНЖ} = \text{железо} / \text{ОЖСС} \times 100\%.$$

Концентрация цистатина С, эритропоэтина, ферритина, гаптоглобина, гепсидина, ферропортина и лактоферрина в сыворотке крови определялась методами иммуноферментного анализа с использованием наборов реагентов фирмы VT LAB Bioassay Technology Laboratory (Shanghai, China), а концентрация трансферрина – с помощью реагентных наборов фирмы Cormay (Польша). Измерения проводились на приборе Stat Fax 303+.

При сравнении 2 групп применяли критерий Стьюдента или U-критерий Манна – Уитни; при сравнении более чем 2 групп – дисперсионный анализ (ANOVA) или критерий Крускала – Уоллиса. Категориальные переменные оценивались с использованием  $\chi^2$ -критерия или точного критерия Фишера. Двусторонний уровень значимости  $p < 0,05$  принимался статистически значимым.

Все статистические расчеты выполнялись в программах MS Excel-2019 и IBM SPSS Statistics 26. Нулевая гипотеза отклонялась при значении  $p < 0,050$ .

## ■ РЕЗУЛЬТАТЫ

Осуществлен сравнительный анализ ряда клинических и лабораторных показателей у пациентов 2 групп: контрольной и группы пациентов с терминальной стадией ХБП.



У мужчин концентрация креатинина в терминальной стадии заболевания оказалась значительно увеличенной. Медиана ее составила 618,5 мкмоль/л, что в 7,6 раза выше аналогичного показателя у лиц контрольной группы – 81,0 мкмоль/л ( $p < 0,001$ ). Показатель содержания цистатина С демонстрировал аналогичную тенденцию: в терминальной стадии он достиг 5,12 мкг/л, что в 3,3 раза ( $p < 0,001$ ) превышало его уровень у пациентов контрольной группы (1,55 мкг/л).

У женщин концентрация креатинина в терминальной стадии составила 585,0 мкмоль/л, что в 8,3 раза ( $p < 0,001$ ) выше аналогичного показателя в контрольной группе (71,0 мкмоль/л). Уровень цистатина С увеличился до 4,81 мкг/л, т. е. в 2,57 раза ( $p < 0,001$ ) по сравнению с таковым в контрольной группе (1,87 мкг/л), что также отражает нарушение функции почек (см. таблицу).

Концентрация гемоглобина (Hb) у мужчин, пребывающих в терминальной стадии заболевания, снизилась с 14,5 г/л на 52,6% ( $p < 0,001$ ) и составила 9,5 г/л; у женщин – с 12,3 г/л на 64% ( $p < 0,001$ ), достигнув 7,5 г/л. Это сопровождалось постепенным снижением уровня сывороточного железа (Fe). У мужчин показатель его содержания снизился с 20,0 (контроль) до 9,8 мкмоль/л, т. е. в 2 раза ( $p < 0,001$ ). У женщин концентрация железа уменьшилась с 14,0 до 6,5 мкмоль/л, что в 2,2 раза ( $p < 0,001$ ) ниже контроля.

У мужчин исследуемой группы показатель ОЖСС составил 50,3 мкмоль/л (в контрольной – 66,0 мкмоль/л), а ЛЖСС – 47,0 мкмоль/л (в контрольной – 41,1 мкмоль/л): изменения в показателях тестов составили 31,2 ( $p < 0,001$ ) и 14,3% ( $p = 0,073$ ) соответственно. У женщин данные показатели существенно не изменились.

Концентрация ферритина у мужчин контрольной группы составила 95,0 мкг/л, в терминальной стадии – 158,0 мкг/л, что соответствует возрастанию его уровня на 66,3%. У женщин отмечено повышение концентрации ферритина с 91,0 до 139,0 мкг/л (на 52,7%). Увеличение уровня ферритина отражает активность воспалительного процесса и наличие функционального дефицита железа.

Концентрация трансферрина, напротив, снизилась: у мужчин – с 231,0 до 181,0 мкмоль/л (на 27,6%,  $p = 0,001$ ); у женщин – с 253,0 до 147,5 мкмоль/л, что соответствует снижению на 71,5% ( $p < 0,001$ ).

Степень насыщения трансферрина железом (НТЖ) у мужчин в контрольной группе составляла 46,0%, тогда как в терминальной стадии снизилась до 23,5% (уменьшение на 95,7%,  $p < 0,001$ ). У женщин этот показатель уменьшился с 32,7 до 15,8% (в 2,1 раза,  $p < 0,001$ ). Данные изменения свидетельствуют о функциональном дефиците железа.

Уровень гаптоглобина также уменьшился: у мужчин – до 103,0 мг/дл по сравнению с таковым у лиц контрольной группы (166,0 мг/дл) – снижение на 61,1% ( $p < 0,001$ ); у женщин – до 69,0 мг/дл по сравнению с содержанием его у пациентов контрольной группы (110,0 мг/дл), что соответствует снижению на 59,4% ( $p < 0,001$ ).

Концентрация эритропоэтина у мужчин в контрольной группе составила 2320 мМЕ/мл, в терминальной стадии – 797 мМЕ/мл (снижение в 2,9 раза,  $p < 0,001$ ). У женщин уровень эритропоэтина снизился с 1925 до 821 мМЕ/мл, что в 2,3 раза ниже значения аналогичного показателя в контрольной группе ( $p < 0,001$ ). Это может расцениваться как нарушение его синтеза и развитие анемии.

Значительный рост отмечен в уровне лактоферрина: у мужчин – с 0,970 до 2,500 мкг/л (увеличение в 2,6 раза,  $p < 0,001$ ); у женщин – с 0,960 до 2,700 мкг/л (увеличение в 2,8 раза,  $p < 0,001$ ).

Состояние метаболических факторов регуляции обмена железа при его функциональном дефиците у пациентов с терминальной стадией хронической болезни почек

**Показатели лабораторных тестов, отражающие функциональное состояние почек у пациентов с хронической болезнью почек**  
**Laboratory test indicators reflecting the functional state of the kidneys in patients with chronic kidney disease**

Лабораторные тесты	Исследованные группы лиц											
	Мужчины						Женщины					
	Контрольная			ХБН			Контрольная			ХБН		
	Me	Q1	Q3	Me	Q1	Q3	Me	Q1	Q3	Me	Q1	Q3
Креатинин, мкмоль/л	81,0	71,0	94,0	618,5	472,0	789,0	71,0	61,0	89,0	585,0	506,0	799,5
p	<0,001						<0,001					
Цистатин С, мкг/л	1,55	0,95	1,87	5,12	4,53	6,65	1,87	1,65	1,94	4,81	4,34	5,16
p	<0,001						<0,001					
Гемоглобин, г/л	14,5	12,9	16,5	9,5	8,0	11,2	12,3	11,5	13,2	7,5	6,8	8,6
p	<0,001						<0,001					
Железо, мкмоль/л	20,0	17,0	23,0	9,8	8,5	12,3	14,0	13,0	16,0	6,5	5,6	8,0
p	<0,001						<0,001					
ОЖСС, мкмоль/л	66,0	57,0	73,0	50,3	42,7	53,6	52,0	49,0	65,0	48,3	43,2	54,7
p	<0,001						0,106					
ЛЖСС, мкмоль/л	47,0	37,0	50,0	41,1	31,7	46,0	40,0	33,0	49,0	43,1	38,0	47,5
p	0,073						0,467					
Ферритин, мкг/л	95,0	82,0	118,0	158,0	138,0	181,0	91,0	82,0	95,0	139,0	121,5	160,5
p	<0,001						<0,001					
Трансферрин, мкмоль/л	231,0	224,0	274,0	181,0	127,0	207,0	253,0	243,0	263,0	147,5	134,0	184,0
p	0,001						<0,001					
НТЖ, %	46,0	32,6	52,5	23,5	18,0	34,7	32,7	30,0	51,5	15,3	12,8	18,0
p	<0,001						<0,001					
Гаптоглобулин, мг/дл	166,0	148,0	170,0	103,0	76,0	113,0	110,0	106,0	120,0	69,0	62,0	86,0
p	<0,001						<0,001					
Эритропоэтин, мМЕ/мл	2320	2010	2404	797	491	871	1925	1889	2072	821	716	941
p	<0,001						<0,001					
Лактоферрин, мкг/л	0,970	0,720	1,090	2,500	2,000	3,100	0,960	0,780	1,200	2,700	2,100	3,150
p	<0,001						<0,001					
Ферропортин, мкг/л	0,30	0,27	0,35	0,84	0,72	1,13	0,36	0,34	0,38	0,76	0,68	0,93
p	<0,001						<0,001					
Гепцидин, мкг/л	165,0	159,0	204,0	359,0	317,0	444,0	165,0	157,0	176,0	295,5	258,5	330,5
p	<0,001						<0,001					

Примечания: p – по сравнению с аналогичными показателями у лиц контрольной группы; Me – медиана; Q – квартиль.



Показатели ферропортина также возросли: у мужчин – с 0,30 (контроль) до 0,84 мкг/л (в 2,8 раза,  $p < 0,001$ ); у женщин – с 0,36 до 0,76 мкг/л (в 2,1 раза,  $p < 0,001$ ). Эти изменения отражают усиление мобилизации железа внутри клеток.

Уровень гепсидина у мужчин увеличился с 165,0 до 317,0 мкг/л, что соответствует росту концентрации на 92,1% ( $p < 0,001$ ). У женщин показатель этого теста достиг 295,5 мкг/л, что на 79,0% выше аналогичного значения у пациентов контрольной группы ( $p < 0,001$ ). Это, по всей вероятности, указывает на угнетение абсорбции железа в кишечнике и его выхода из клеток.

Таким образом, результаты выполненного исследования показывают, что у женщин при прогрессировании хронической почечной недостаточности происходят аналогичные отмеченным у мужчин изменения показателей лабораторных тестов, характеризующих обмен железа.

На основании результатов проведенного корреляционного анализа у пациентов с терминальной стадией ХБП были выявлены значимые связи между показателями биохимических и гематологических тестов, характеризующих функциональное состояние почек, и биохимическими показателями, специфически отражающими свойственное контингенту исследованных лиц состояние обмена железа. Так, уровень креатинина продемонстрировал отрицательную корреляцию с таковым гемоглобина ( $\rho = -0,546$ ;  $p < 0,001$ ), сывороточного железа ( $\rho = -0,508$ ;  $p < 0,001$ ), общей железосвязывающей способностью (ОЖСС) ( $\rho = -0,395$ ;  $p < 0,001$ ), латентной железосвязывающей способностью (ЛЖСС) ( $\rho = -0,226$ ;  $p = 0,032$ ), степенью насыщения трансферрина (НТЖ) ( $\rho = -0,302$ ;  $p = 0,004$ ), уровнем трансферрина ( $\rho = -0,393$ ;  $p < 0,001$ ) и эритропоэтина ( $\rho = -0,859$ ;  $p < 0,001$ ). Эти результаты свидетельствуют о том, что ухудшение функции почек тесно связано с углублением анемии, нарушением метаболизма железа и, вероятно, снижением синтеза эндогенного эритропоэтина.

Напротив, отмечена сильная положительная корреляция уровня креатинина с таковым цистатина С ( $\rho = 0,762$ ;  $p < 0,001$ ), ферритина ( $\rho = 0,722$ ;  $p < 0,001$ ), лактоферрина ( $\rho = 0,682$ ;  $p < 0,001$ ), ферропортина ( $\rho = 0,763$ ;  $p < 0,001$ ) и гепсидина ( $\rho = 0,767$ ;  $p < 0,001$ ). Это может быть объяснено увеличением показателей маркеров воспаления и показателей, отражающих задержку железа в депо, по мере прогрессирования почечной недостаточности. Кроме того, положительная корреляция между уровнями креатинина и цистатина С подтверждает важную роль последнего в оценке функционального состояния почек.

При анализе показателей железа установлены положительные корреляции уровня сывороточного железа с таковым ОЖСС ( $\rho = 0,268$ ;  $p = 0,011$ ), НТЖ ( $\rho = 0,858$ ;  $p < 0,001$ ), гаптоглобином ( $\rho = 0,233$ ;  $p = 0,027$ ), эритропоэтином ( $\rho = 0,327$ ;  $p = 0,002$ ) и трансферрином ( $\rho = 0,268$ ;  $p = 0,011$ ), а также отрицательные – с уровнем цистатина С ( $\rho = -0,513$ ;  $p < 0,001$ ), ферритина ( $\rho = -0,321$ ;  $p = 0,002$ ), лактоферрина ( $\rho = -0,425$ ;  $p < 0,001$ ), ферропортина ( $\rho = -0,408$ ;  $p < 0,001$ ) и гепсидина ( $\rho = -0,407$ ;  $p < 0,001$ ). Полученные данные показывают, что при ХБП железо накапливается в депо (в пользу чего свидетельствуют высокие значения ферритина и гепсидина) на фоне констатированного у пациентов снижения уровня циркулирующего в крови железа.

Интерес представляет также взаимосвязь уровня ферритина с другими биомаркерами. Между значениями концентрации ферритина и трансферрина выявлена отрицательная корреляция ( $\rho = -0,277$ ;  $p = 0,008$ ), тогда как между содержанием ферритина, лактоферрина ( $\rho = 0,691$ ;  $p < 0,001$ ), ферропортина ( $\rho = 0,631$ ;  $p < 0,001$ )

и гепсидина ( $\rho=0,714$ ;  $p<0,001$ ) установлены сильные положительные корреляционные связи. Кроме того, зафиксирована отрицательная связь ферритина с эритропоэтином ( $\rho=-0,608$ ;  $p<0,001$ ), что можно объяснить снижением синтеза эндогенного эритропоэтина при ухудшении функции почек и более выраженным воспалительным проявлением заболевания.

Между показателями содержания лактоферрина и ферропортина ( $\rho=0,566$ ;  $p<0,001$ ), лактоферрина и гепсидина ( $\rho=0,603$ ;  $p<0,001$ ), а также между уровнями ферропортина и гепсидина ( $\rho=0,678$ ;  $p<0,001$ ) выявлены сильные положительные корреляции. Эти результаты указывают на то, что при ХБП удержание железа в системе фагоцитирующих мононуклеаров (ретикулоэндотелиальной системе) и ограничение его использования сопровождаются параллельными изменениями данных биомаркеров.

## ■ ОБСУЖДЕНИЕ

Как следует из полученных результатов, значительное повышение концентрации креатинина и цистатина С у пациентов, получающих гемодиализ, свидетельствует о серьезных нарушениях функциональной деятельности почек. Определение цистатина С наряду с креатинином является важным тестом, отражающим функциональное состояние почек. Уровень цистатина С может выявлять повреждение почек на ранних стадиях заболевания, поскольку, в отличие от креатинина, он не зависит от возраста, пола и мышечной массы, что согласуется с данными литературы [15].

Результаты исследования показали, что при прогрессирующей хронической болезни почек (ХБП) наблюдается анемия, связанная с нарушением обмена железа, при этом ключевые параметры, отражающие его состояние, – уровень сывороточного железа, эритропоэтина, ферритина, трансферрина, гаптоглобина, ферропортина, лактоферрина и гепсидина – претерпевают значимые изменения в различных направлениях. Эти изменения играют важную роль в этиопатогенезе заболевания и развитии анемии.

Так, значительное снижение концентрации сывороточного железа у пациентов с терминальной стадией заболевания отражает функциональный дефицит железа. Факторами, способствующими функциональному дефициту железа, являются хроническое воспаление и низкий клиренс гепсидина, наблюдаемый при ХБП. Эти данные подтверждены также многочисленными исследованиями Ganz и Nemeth, Gaweda A.E. и др., показывающими, что при хроническом воспалении повышение уровня гепсидина ограничивает использование железа и способствует развитию анемии [16]. Повышенный уровень гепсидина препятствует высвобождению запасенного железа из абсорбирующих его эпителиальных клеток двенадцатиперстной кишки, макрофагов и гепатоцитов, снижая доступность железа для эритропоэза. В выполненном нами исследовании рост уровня гепсидина на терминальной стадии также демонстрирует этот механизм. Это может приводить к высокой концентрации ферритина в плазме (сыворотке) крови и низкому насыщению трансферрина, что характерно для функциональной железodefицитной анемии [17].

Рост уровня ферритина хотя и отражает запасы железа, но прежде всего свидетельствует о наличии воспалительного процесса, будучи белком острой фазы. Поэтому важно учитывать, что при воспалении концентрация ферритина отражает не только статус железа, но и системное воспаление [17]. Исследованиями Jelkmann W.,



Gaweda AE., Hashmi MF и др. подчеркивается значимость определения ферритина как маркера при воспалительных состояниях и анемии хронических заболеваний [18–20]. Повышение ферритина на терминальной стадии заболевания рассматривается как клинический показатель функционального дефицита железа.

Снижение концентрации трансферрина и степени насыщения трансферрина железом (НТЖ) также связано с прогрессированием заболевания. Уменьшение уровня трансферрина может быть обусловлено различными факторами, включая повышение уровня гепсидина, что приводит к деградации ферропортина и снижению выхода железа в плазму крови, вызывая функциональный дефицит железа. В этом случае уменьшается количество свободного железа, способного связываться с трансферрином, что приводит к снижению НТЖ. Механизм гепсидин – ферропортин, объясняющий нарушение гомеостаза железа, описан Nemeth и Ganz [21]. У пациентов с ХБП и функциональным дефицитом железа НТЖ может быть  $\leq 20,0\%$ , поскольку костный мозг потребляет железо из циркулирующего трансферрина быстрее, чем оно может восполниться из запасов железа. В нашем исследовании НТЖ составил 23,5% у мужчин и 15,3% у женщин; при этом уровень ферритина в обеих группах превышал 100 мкг/л.

Многочисленные исследования показывают, что при ХБП уровень железа и ОЖСС снижается или остается в пределах нормы, в то время как концентрация ферритина и степень насыщения трансферрина уменьшаются [22, 23]. Обычно повышение ЛЖСС наблюдается при дефиците железа, так как трансферрин свободен для связывания железа [19]. Повышение уровня гепсидина ограничивает выход железа из системы фагоцитирующих мононуклеаров (ретикулоэндотелиальной системы) и всасывание в кишечнике, снижая содержание сывороточного железа и НТЖ, в то время как депо железа (ферритин) остается нормальным или повышенным. ОЖСС может несколько повышаться из-за компенсаторного увеличения синтеза трансферрина в печени при дефиците железа, но при хроническом воспалении синтез трансферрина ограничен, что препятствует росту ОЖСС. Взаимодействие этих факторов приводит к заметным изменениям ОЖСС, тогда как показатель ЛЖСС может оставаться статистически незначимым. Кроме того, наблюдается высокая вариабельность сывороточного железа и НТЖ в зависимости от сеанса гемодиализа, что также объясняет отсутствие статистически значимых различий в показателе ЛЖСС. Таким образом, определение ОЖСС и ЛЖСС имеет ограниченную ценность для выявления функционального дефицита железа у пациентов на гемодиализе [24]. Raoof I.B. и соавт. показали наличие положительной корреляции между уровнями ОЖСС и ЛЖСС у гемодиализных пациентов при статистически незначимой разнице [25].

Уменьшение уровня гаптоглобина при ХБП снижает нейтрализацию свободного гемоглобина, что приводит к дополнительной гемотоксичности и неэффективному использованию железа [26].

Нарушение функции почек при ХБП может привести к снижению продукции эритропоэтина и эритроцитов. Эритропоэтин синтезируется в корковом слое почек и наружном слое мозгового вещества в интерстициальных претубулярных клетках I типа и обеспечивает дифференциацию эритроидных клеток [22].

Снижение уровня эритропоэтина на терминальной стадии заболевания на 66,4% связано с нарушением его синтеза вследствие функциональной недостаточности почек и напрямую влияет на патогенез анемии. Babitt и Lin подробно исследовали этот

процесс и показали, что снижение уровня эритропоэтина является ключевым фактором развития анемии при ХБП [27]. Гепсидин-индуцированная блокада железа дополнительно ограничивает чувствительность к эритропоэтину, так как дифференцировка эритробластов в ретикулоциты является железозависимым процессом [28, 29].

Ферропортин макрофагов, ответственный за экспорт железа, играет ключевую роль в гомеостазе железа. Его экспрессия подавляется воспалительными цитокинами, способствующими секвестрации железа, а трансляция контролируется железом и гепсидином на посттрансляционном уровне [30]. Повышение уровня ферропортина, несмотря на парадоксальность, рассматривается как компенсаторная реакция на высокое содержание гепсидина, когда организм пытается увеличить мобилизацию железа, но высокий уровень гепсидина блокирует этот эффект.

При хронических заболеваниях (особенно при ХБП и воспалительно-сопровождаемых анемиях) возможно одновременное повышение уровней гепсидина и ферропортина. Эта ситуация обусловлена компенсаторными механизмами, влиянием воспалительных цитокинов, тканеспецифическими особенностями и нарушением фильтрационно-клиренсовой функции [31, 32].

Повышение уровней лактоферрина и ферропортина можно рассматривать как адаптивный ответ организма для поддержания гомеостаза железа. Лактоферрин обладает противовоспалительным эффектом и способен снижать уровень гепсидина, способствуя высвобождению железа. Об этом упоминали Mohammad G., Kell D.B., Rascón-Cruz Q. и др. в своих исследованиях [12, 33, 34]. Повышение концентрации лактоферрина при ХБП является компенсаторным ответом на снижение уровня железа в сыворотке и прогрессирование воспалительного процесса [35].

Результаты выполненного исследования и данные современной литературы позволяют судить о том, что при хронической болезни почек наблюдаются сложные и взаимосвязанные изменения между метаболическими факторами регуляции обмена железа. Точный мониторинг этих биомаркеров важен для ранней диагностики анемии и разработки индивидуальных стратегий лечения. Нарушение обмена железа при ХБП связано с дисфункцией оси гепсидин – ферропортин. Несмотря на повышение уровня гепсидина, организм усиливает синтез ферропортина для удовлетворения потребности в железе, что объясняется активацией внутриклеточных путей под влиянием цитокинов. Кроме того, при ХБП наблюдается снижение клиренса гепсидина из плазмы (нарушение почечной элиминации), что поддерживает высокий уровень его биологически активной формы в плазме, вызывая локальные и тканеспецифические изменения экспрессии ферропортина [36–38].

Дополнительно в исследовании Kamal N.M. и соавторов у гемодиализных пациентов выявлена сильная положительная корреляция между уровнем гепсидина и ферритина, а также отрицательная корреляция с гемоглобином и скоростью клубочковой фильтрации [39]. В крупном когортном исследовании Mercadal L. и соавторов у 199 пациентов с ХБП стадий 1–5 уровень гепсидина был выше у пациентов с воспалением и функциональным дефицитом железа, при этом наблюдалась отрицательная корреляция с гемоглобином [40]. Эти данные подтверждают значимость мониторинга биомаркеров обмена железа для оценки тяжести анемии и оптимизации индивидуальных стратегий терапии при ХБП.



## ■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При ХБП нарушение обмена железа, активация маркеров воспаления и ослабление эритропоэза являются основными патогенетическими механизмами, которые взаимосвязанно участвуют в формировании анемии. Полученные в данном исследовании результаты показали, что, с одной стороны, у пациентов с ХБП уровень железа, эритропоэтина, гаптоглобина и трансферрина был значительно снижен, а с другой – наблюдалось повышение уровня ферритина, ферропортина, лактоферрина и гепсидина в сыворотке крови. Снижение степени насыщения трансферрина и повышение уровня ферритина являются типичными показателями функционального железodefицита воспалительного генеза. Повышение уровня лактоферрина и ферропортина рассматривается как адаптивный механизм, направленный на поддержание гомеостаза железа в организме. Совместный анализ таких биомаркеров, как ферритин, НТЖ, гепсидин и лактоферрин, при ХБП может позволить более точно определить тип и причину анемии, а также спланировать целенаправленную терапевтическую стратегию.

## ■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Malkoch AV, Filatova NN, Shutov, EV. The Role of Iron in the Development and Correction of Anemia in Chronic Kidney Disease. *Effective Pharmacotherapy*. 2024;20(42):28–34. doi: 10.33978/2307-3586-2024-20-42-28-34. (in Russian)
2. Rohr M, Brandenburg V, Brunner-La Rocca HP. How to diagnose iron deficiency in chronic disease: A review of current methods and potential marker for the outcome. *European Journal of Medical Research*. 2023. doi: 10.1186/s40001-022-00922-6
3. Gao Z, Hu Y, Gao Y, et al. The association of hepcidin, reticulocyte hemoglobin equivalent and anemia-related indicators on anemia in chronic kidney disease. *Medicine*. 2023;102(17):e33558.
4. Zaporozhka A, Malyszko J. Novel iron biomarkers in chronic kidney disease. *Wiad Lek*. 2021;74(12):3230–3233. PMID: 35058395.
5. Dignass A, Farrag K, Stein J. Limitations of Serum Ferritin in Diagnosing Iron Deficiency in Inflammatory Conditions. *Int J Chronic Dis*. 2018 Mar 18;2018:9394060. doi: 10.1155/2018/9394060
6. Fujisawa H, Nakayama M, Haruyama N, et al. Association between iron status markers and kidney outcome in patients with chronic kidney disease. *Sci Rep*. 2023 Oct 25;13(1):18278. doi: 10.1038/s41598-023-45580-8
7. Clinical Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Patients with Chronic Kidney Disease Stages 4–5D and Principles of Nutritional Support. Developed for Healthcare Professionals at All Levels of the Healthcare System. Bishkek; 2024. 199 p. (in Russian)
8. Schaer DJ, Vinchi F, Ingoglia G, Tolosano E, Buehler PW. Haptoglobin, hemopexin, and related defense pathways-basic science, clinical perspectives, and drug development. *Front Physiol*. 2014 Oct 28;5:415. doi: 10.3389/fphys.2014.00415
9. Gulhar R, Ashraf MA, Jialal I. Physiology, Acute Phase Reactants. [Updated 2023 Apr 24]. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan. Available at: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519570/?utm\\_source=chatgpt.com](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519570/?utm_source=chatgpt.com).
10. Kautz L, Jung G, Valore EV, et al. Identification of erythroferrone as an erythroid regulator of iron metabolism. *Nat Genet*. 2014 Jul;46(7):678–84. Epub 2014 Jun 1. doi: 10.1038/ng.2996
11. Nemeth E, Ganz T. Hepcidin and Iron in Health and Disease. *Annu Rev Med*. 2023 Jan 27;74:261–277. doi: 10.1146/annurev-med-043021-032816
12. Mohammad G, Matakidou A, Robbins PA, et al. The kidney hepcidin/ferroportin axis controls iron reabsorption and determines the magnitude of kidney and systemic iron overload. *Kidney International*. 2021;100(3):559–569.
13. Wang CY, Babitt JL. Hepcidin regulation in the anemia of inflammation. *Curr Opin Hematol*. 2016;23:189–197.
14. Zahan MS, Ahmed KA, Moni A, et al. Kidney protective potential of lactoferrin: pharmacological insights and therapeutic advances. *Korean J Physiol Pharmacol*. 2022 Jan 1;26(1):1–13. doi: 10.4196/kjpp.2022.26.1.1
15. Benoit SW, Ciccio EA, Devarajan P. Cystatin C as a biomarker of chronic kidney disease: latest developments. *Expert Rev Mol Diagn*. 2020 Oct;20(10):1019–1026. doi: 10.1080/14737159.2020.1768849
16. Ganz T, Nemeth E. Iron homeostasis in host defence and inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2015 Aug;15(8):500–10. doi: 10.1038/nri3863
17. Hain D, Bednarski D, Cahill M, et al. Iron-Deficiency Anemia in CKD: A Narrative Review for the Kidney Care Team. *Kidney Med*. 2023 May 25;5(8):100677. doi: 10.1016/j.xkme.2023.100677
18. Jelkmann W. Regulation of erythropoietin production. *J Physiol*. 2011 Mar 15;589(Pt 6):1251–8. doi: 10.1113/jphysiol.2010.195057
19. Gaweda AE. Markers of iron status in chronic kidney disease. *Hemodial Int*. 2017 Jun;21 Suppl 1(Suppl 1):S21–S27. doi: 10.1111/hdi.12556
20. Hashmi MF, Aeddula NR, Shaikh H, et al. Anemia of Chronic Kidney Disease. [Updated 2024 Jul 23]. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539871/>
21. Nemeth E, Ganz T. The role of hepcidin in iron metabolism. *Acta Haematol*. 2009;122(2–3):78–86. doi: 10.1159/000243791
22. Badura K, Janc J, Wąsik J, et al. Anemia of Chronic Kidney Disease – Narrative Review of Its Pathophysiology, Diagnosis, and Management. *Biomedicines*. 2024;12:1191. doi: 10.3390/biomedicines12061191
23. Rivera RF. Anemia in patients with chronic kidney disease: current screening and management approaches. *Nephrol Renal Dis*. 2016. doi: 10.15761/NRD.1000101
24. Ueda N, Takasawa K. Impact of Inflammation on Ferritin, Hepcidin and the Management of Iron Deficiency Anemia in Chronic Kidney Disease. *Nutrients*. 2018 Aug 27;10(9):1173. doi: 10.3390/nu10091173

25. Raouf IB, Abdalah ME. Quality assessment of unsaturated iron-binding protein capacity in Iraqi patients undergoing hemodialysis. *J Pharm Bioallied Sci.* 2020 Jul-Sep;12(3):246–251. doi: 10.4103/jpbs.JPBS\_12\_20
26. Schaer, DJ, PBuehler PW, Alayash AL, et al. Hemolysis and free hemoglobin revisited: exploring hemoglobin and heme scavengers as a novel class of therapeutic proteins. *Blood.* 2013;121(8):1276–1284. doi: 10.1182/blood-2012-11-451229
27. Babbitt JL, Lin HY. Mechanisms of anemia in CKD. *J Am Soc Nephrol.* 2012 Oct;23(10):1631–4. doi: 10.1681/ASN.2011111078
28. Batchelor EK, Kapitsinou P, Pergola PE, et al. Iron deficiency in chronic kidney disease: updates on pathophysiology, diagnosis, and treatment. *J Am Soc Nephrol.* 2020;31(3):456–468. doi: 10.1681/ASN.2019020213
29. Portolés J, Martin L, Broseta JJ, Cases A. Anemia in Chronic Kidney Disease: From Pathophysiology and Current Treatments, to Future Agents. *Front. Med.* 2021;8:642296. doi: 10.3389/fmed.2021.642296
30. Wojtaszek E, Glogowski T, Malyszko J. Iron and Chronic Kidney Disease: Still a Challenge. *Front Med (Lausanne).* 2020 Dec 18;7:565135. doi: 10.3389/fmed.2020.565135
31. Lapina E.S., Batiushin M.M., Gurzhiyeva K.S., Nasser Jel'Din E.S. Iron and hepcidin metabolism in patients with chronic kidney disease 5d stage. *Nephrology (Saint-Petersburg).* 2015;19(5):81–85. (in Russian)
32. Jonny J, Sitepu EC, Azzalyka KA, Pasiak TF. Role of hepcidin in hemodialysis patients: An update review. *Turk J Nephrol.* 2023;32(4):277–283.
33. Kell DB, Heyden EL, Pretorius E. The Biology of Lactoferrin, an Iron-Binding Protein That Can Help Defend Against Viruses and Bacteria. *Front Immunol.* 2020 May 28;11:1221. doi: 10.3389/fimmu.2020.01221
34. Rascón-Cruz Q, Siqueiros-Cendón TS, Sianez-Estrada LI, et al. Antioxidant Potential of Lactoferrin and Its Protective Effect on Health: An Overview. *Int. J. Mol. Sci.* 2025;26:125. doi: 10.3390/ijms26010125
35. Jianing FU, Yang L, Dehong TAN, Ling L. Iron transport mechanism of lactoferrin and its application in food processing. *Food Sci. Technol, Campinas.* 2023;43:e121122. doi: 10.1590/ fst.121122
36. Zhang DL, Ghosh MC, Rouault TA. The physiological functions of iron regulatory proteins in iron homeostasis – an update. *Frontiers in Pharmacology.* 2014;5:124. doi: 10.3389/fphar.2014.00124
37. Knutson M.D. Iron transport proteins: Gateways of cellular and systemic iron homeostasis. *Journal of Biological Chemistry.* 2017;292(31):12735–12743. doi: 10.1074/jbc.R117.789537
38. Agarwal AK. Iron Metabolism and Management: Focus on Chronic Kidney Disease. *Kidney Int. Suppl.* 2021;11:46–58. doi: 10.1016/j.kisu.2020.12.003
39. Kamal NM, Diab M, Khalil RA. Study of hepcidin level in patients with chronic kidney disease and its correlation with markers of iron status in Zagazig University Hospital. *Egypt J Intern Med.* 2018;30:284–288. doi: 10.4103/ejim.ejim\_31\_18
40. Mercadal L, Metzger M, Haymann JP, et al. NephroTest Study Group. The relation of hepcidin to iron disorders, inflammation and hemoglobin in chronic kidney disease. *PLoS One.* 2014 Jun 30;9(6):e99781. doi: 10.1371/journal.pone.0099781. Erratum in: *PLoS One.* 2015 Mar 26;10(3):e0123145. doi: 10.1371/journal.pone.0123145



<https://doi.org/10.34883/PI.2026.15.2.011>



Мамедов И.С.<sup>1</sup>, Перевезенцев О.А.<sup>1,2</sup>✉, Золкина И.В.<sup>3</sup>, Туров Ф.О.<sup>1</sup>, Крапивкин А.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Научно-практический центр специализированной медицинской помощи детям имени В.Ф. Войно-Ясенецкого, Москва, Россия

<sup>2</sup> Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия

<sup>3</sup> Клиника новых медицинских технологий «АрхиМед», Москва, Россия

## Метаболомные маркеры обструктивных заболеваний мочевыводящих путей у детей

**Конфликт интересов:** не заявлен.

**Вклад авторов:** отбор клинического материала, написание текста статьи – Туров Ф.О.; проведение хроматографического анализа – Золкина И.В.; статистический анализ результатов – Мамедов И.С.; анализ литературных источников, написание текста статьи – Перевезенцев О.А.; общее редактирование – Крапивкин А.И.

**Финансирование:** исследование не имело финансовой поддержки.

Подана: 11.09.2025

Принята: 05.03.2026

Контакты: pzpo@mail.ru

### Резюме

**Введение.** Считается, что моча является стерильной жидкостью, которая становится нестерильной только после заражения. При исследовании последней установлено, что в ней существуют определенные сообщества микроорганизмов – так называемый уробиом. Показано, что при различных обструктивных заболеваниях у детей, в частности при пузырно-мочеточниковом рефлюксе (ПМР), может меняться состав уробиома с потенциальным развитием инфекционного процесса. Данный процесс может также сопровождаться определенными метаболическими изменениями в моче. Поэтому выявление маркерных метаболитов, ассоциированных с обструктивными заболеваниями у детей, представляется чрезвычайно актуальным.

**Цель.** Выявить метаболомные маркеры, ассоциированные с пузырно-мочеточниковым рефлюксом и другими обструктивными заболеваниями мочевыделительной системы у детей.

**Материалы и методы.** Был проведен хромато-масс-спектрометрический анализ 60 органических кислот в моче у 10 детей с пузырно-мочеточниковым рефлюксом и некоторыми другими заболеваниями мочевыделительной системы с обструктивным синдромом, а также у 17 здоровых детей, составивших контрольную группу.

**Результаты.** Статистически достоверная связь с обструктивными заболеваниями мочевыделительной системы детей была получена для пировиноградной, лимонной, янтарной и фумаровой органических кислот. При анализе ROC-кривых максимальный AUC (0,84) показал комбинированный профиль по данным метаболитам.

**Заключение.** Установлены особенности метаболического профиля мочи, характерные для обструктивных заболеваний мочевыводящей системы у детей, в частности ПМР. Для разработки в дальнейшем лабораторного диагностического алгоритма раннего выявления инфекционных осложнений при данной форме патологии необходим анализ ассоциации метаболомного профиля мочи с изменением показателей уробиома, выполненный на расширенной выборке пациентов.

**Ключевые слова:** органические кислоты мочи, хромато-масс-спектрометрия, пузырно-мочеточниковый рефлюкс, уробием, мочевыводящие пути

---

Mamedov I.<sup>1</sup>, Perevesentsev O.<sup>1,2</sup>✉, Zolkina I.<sup>3</sup>, Turov F.<sup>1</sup>, Krapivkin A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Scientific and Practical Center for Specialized Medical Care for Children  
Named after V.F. Voyno-Yasenetsky, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

<sup>3</sup> Clinic of New Medical Technologies "ArchiMed", Moscow, Russia

## Metabolomic Markers of Obstructive Urinary Tract Diseases in Children

**Conflict of interest:** nothing to declare.

**Authors' contribution:** selection of clinical material – Turov F.; chromatographic analysis – Zolkina I.; statistical analysis of results – Mamedov I.; analysis of literary sources, text writing – Perevesentsev O.; text writing, general editing – Krapivkin A.

**Funding:** the study had no sponsor support.

Submitted: 11.09.2025

Accepted: 05.03.2026

Contacts: pzpo@mail.ru

---

### Abstract

**Introduction.** Urine has long been considered a sterile fluid that becomes non-sterile only after infection. Studies of urine have revealed the presence of specific microorganism communities: the so-called urobiome. It was shown that in various obstructive diseases in children, particularly in vesicoureteral reflux (VUR), the composition of the urobiome may change, potentially leading to the onset of an infectious process. This process may also be accompanied by certain metabolic changes in urine. Therefore, the identification of marker metabolites associated with obstructive diseases in children is extremely relevant.

**Purpose.** To identify metabolomic markers associated with vesicoureteral reflux and other obstructive diseases of the urinary tract in children.

**Materials and methods.** An analysis of 60 organic acids in urine from 10 children with vesicoureteral reflux and certain other urinary tract disorders involving obstructive syndrome, as well as from 17 healthy children who represented the control group, was conducted using chromatography–mass spectrometry.

**Results.** A statistically significant association with obstructive urinary tract diseases in children was found for pyruvic, citric, succinic, and fumaric organic acids. When analyzing ROC curves, the highest AUC (0.84) was observed for the combined profile of these metabolites.

**Conclusion.** Thus, features of urine metabolic profile specific to obstructive diseases of the urinary tract in children, particularly, VUR, were established. To create a laboratory diagnostic algorithm for the early detection of infectious complications of this pathology, an analysis of the association between urine metabolomic profile and changes in urobiome indicators is required, with an expanded sample of patients.

**Keywords:** organic acids, chromatography–mass spectrometry, vesicoureteral reflux, urobiome, urinary tract



## ■ ВВЕДЕНИЕ

Многие годы считалось, что моча является стерильной жидкостью, которая становится нестерильной только после заражения [1]. Доказательства микробных сообществ в мочевыводящих путях (микробиом мочи или уробиом) появились менее 10 лет тому назад [2, 3]. В дальнейшем была показана ключевая роль изменений микробиомного сообщества мочевого выделительного тракта в развитии инфекционного процесса у детей [3, 4]. Но если состав уробиома у взрослых изучается достаточно активно, то его особенности у детей рассматриваются лишь в нескольких работах [5, 6]. Состав уробиома у детей может изменяться при различных обструктивных заболеваниях мочевыводящих путей, в частности при пузырно-мочеточниковом рефлюксе у детей (ПМР) [6, 7]. Исследованиями показано, что у детей с обструктивными заболеваниями мочевого выделительного тракта повышается вероятность возникновения различных инфекций мочевого выделительного тракта, причем для них характерны частые рецидивы [8].

Исследованиями последних лет показано, что частое инфицирование мочевыводящих путей у детей с ПМР связано не только с изменением уробиома, но и с определенными метаболическими изменениями [9]. В частности, выявлены нарушения в метаболизме желчных кислот, метилцитратном цикле и в пути деградации глутамата [9]. Также установлено, что у здоровых индивидов метаболомный профиль мочи является достаточно стабильным в течение всей жизни [10]. Поэтому изучение особенностей метаболомного профиля у детей с обструктивными заболеваниями мочевыводящих путей позволит лучше понять этиопатогенез развития инфекционного процесса у таких пациентов.

## ■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявить метаболомные маркеры, ассоциированные с пузырно-мочеточниковым рефлюксом и другими обструктивными заболеваниями мочевого выделительного тракта у детей.

## ■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 10 детей с различными обструктивными заболеваниями мочевыводящих путей, в основном ПМР. Критерии включения: возраст детей варьировался от 2 до 9 лет. У 6 детей был выявлен ПМР 2-й степени, у 1 ребенка – пиэлоэктазия, у 1 – мегауретер верхнего сегмента удвоенной правой почки с ее неполным удвоением, у 1 – рефлюксирующий мегауретер справа. Критерии исключения: из исследования исключались дети с признаками активного инфекционного процесса мочевыводящих путей. В контрольную группу вошли 17 практических здоровых детей в возрасте от 3 до 15 лет без признаков обструктивных заболеваний мочевого выделительного тракта.

Метод определения органических кислот в моче: количественное определение 60 органических кислот в моче проводилось в 2 этапа. Анализ кетокислот (ацетоуксусной, 3-гидроксимасляной) включал в себя разведение мочи деионизированной водой в соотношении 50:50 v/v и последующую дериватизацию: добавление 50 мкл буфера (смесь метилгидроксиламина гидрохлорида в метаноле с пиридином (2:8 v/v)) к 1 мл разведенной мочи. Для определения остальных органических кислот образцы

мочи разводились деионизированной водой в соотношении 50:50 v/v и далее без дериватизации вводились в хроматографическую систему. Измерение содержания органических кислот и их производных проводилось с использованием ВЭЖХ-МС/МС-системы, оборудованной масс-спектрометром SciexQtrap 5500 с хроматографом Waters Acquity Premier, с предварительным разделением на хроматографической колонке с сорбентом с обратной фазой Phenomenex silica core с размером частиц сорбента 2,6 мкм, 100A, C18 Kinetex® (50×2.10 mm) (Phenomenex, USA). Референтные интервалы для каждого из показателей были рассчитаны анализом контрольной выборки, которая состояла из 443 практически здоровых детей разных возрастных групп [11].

Для установления различий в показателях среднего значения содержания органических кислот в моче у пациентов с ПМР и у пациентов группы контроля рассчитывался t-критерий Стьюдента для несвязанных совокупностей с границей значимости  $P=0,05$  и критерий Манна – Уитни с такой же границей значимости. Для доказательства диагностической значимости лабораторного теста использовался метод построения ROC-кривых. Статистические расчеты были выполнены в программе Statistica 10.0.

## ■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Основные метаболические особенности органических кислот в моче у пациентов с ПМР представлены в табл. 1.

Уровень фумаровой кислоты у 1 пациента превысил пороговое значение 2,0 ммоль/моль креатинина (ммоль/моль Cr), что может быть ассоциировано с нарушением митохондриального обмена, локальными гипоксическими явлениями и нарушением реабсорбции в почечных канальцах при обструкции мочевыводящих путей [12, 13]. У большинства пациентов был повышен уровень лимонной кислоты (максимальное значение было >1700 ммоль/моль Cr), что, вероятно, ассоциировано с компенсаторным усилением метаболических процессов в цикле трикарбоновых кислот (ЦТК) [14]. Концентрация янтарной кислоты у большинства пациентов была в пределах нормы, но значения ее у отдельных пациентов превышали верхнюю референсную границу. Содержание пировиноградной кислоты было у большинства пациентов на верхней референсной границе, но у 1 пациента превышало значение 4,0 ммоль/моль Cr.

**Таблица 1**

**Основные изменения метаболического профиля органических кислот в моче у детей с обструктивными заболеваниями мочевыводящих путей**

**Table 1**

**Main changes in the metabolic profile of organic acids in urine in children with obstructive urinary tract diseases**

Показатель	Среднее значение ± SD (ммоль/моль креатинина)	Мин. – макс. значение (ммоль/моль креатинина)	Референтные значения (ммоль/моль креатинина)
Пировиноградная кислота	1,16±1,16	0,32–4,16	0,1–1,5
Лимонная кислота	444,45±543,75	11,29–1742,45	150–300
Янтарная кислота	14,59±19,8	0,26–63,24	3–30
Фумаровая кислота	0,51±0,79	0,04–2,67	<2,0



**Таблица 2**

**Сравнительный анализ показателей 4 органических кислот у пациентов с обструктивными заболеваниями мочевыделительной системы и представителей контрольной группы по методу Манна – Уитни**

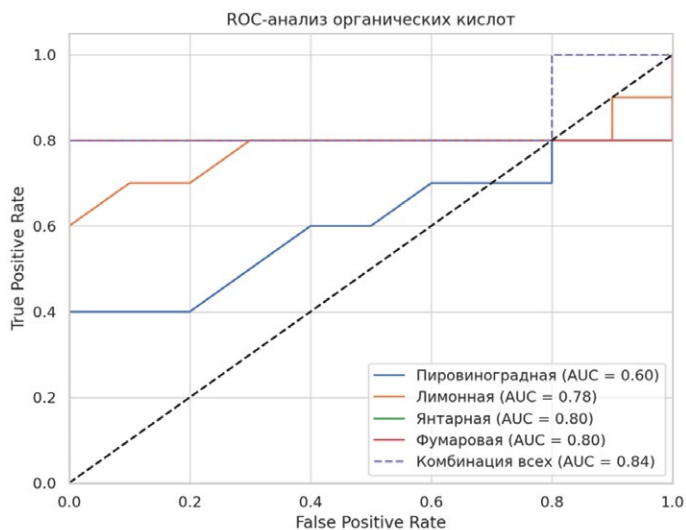
**Table 2**

**Comparative analysis of the indicators of 4 organic acids in the group of patients with obstructive diseases of the urinary system and in the control group using the Mann – Whitney U test**

Показатель	Среднее значение у пациентов (ммоль/моль Cr)	Среднее значение (контроль) (ммоль/моль Cr)	p
Пировиноградная кислота	1,19	0,89	0,39
Лимонная кислота	440,49	230,45	0,19
Янтарная кислота	17,11	6,13	0,07
Фумаровая кислота	0,63	0,24	0,12

Осуществлен статистический анализ показателей 4 органических кислот в моче, нормированных по креатинину, у исследованных пациентов и представителей контрольной группы по методу Манна – Уитни (табл. 2). Различия по U-тесту показателей лимонной, янтарной и фумаровой кислот статистически значимы, что может указывать на их диагностическую ценность при пузырно-мочеточниковом рефлюксе у детей. Данные изменения могут отражать локальные гипоксические и митохондриальные метаболические нарушения, которые связаны с пузырно-мочеточниковым рефлюксом [14].

Построены ROC-кривые показателей содержания 4 органических кислот мочи, нормированных по креатинину (см. рисунок).



**ROC-кривые 4 показателей нормированных по креатинину органических кислот, ассоциированных с обструктивными заболеваниями мочевыделительной системы у детей**  
**ROC curves of 4 creatinine-normalized organic acids associated with obstructive urinary tract diseases in children**

По данным ROC-анализа, наибольшую из 4 исследованных органических кислот диагностическую специфичность и диагностическую чувствительность при ПМР у детей проявили тесты определения янтарной и фумаровой кислот (AUC – 0,80). Но максимальную диагностическую специфичность и чувствительность показал комбинированный анализ всех 4 органических кислот в моче (пировиноградной, лимонной, янтарной и фумаровой). Таким образом, данный метаболический профиль может отражать определенные нарушения обмена веществ, которые происходят при обструктивных процессах мочевыводящих путей у детей. Следует отметить, что данные органические кислоты ассоциированы с различными митохондриальными дисфункциями [15, 16]. К тому же изменения данных метаболических показателей могут отражать гипоксические изменения, что повышает вероятность инфицирования мочевыделительного тракта даже условно-патогенными микроорганизмами, которые присутствуют в уробиоме, например *E. coli* [17].

## ■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что при обструктивных заболеваниях мочевыделительной системы у детей развиваются определенные метаболические изменения, которые потенциально могут быть ассоциированы с уробиомными нарушениями и рецидивирующими инфекциями. Представляется целесообразным проанализировать на большой выборке ассоциацию изменения профиля органических кислот в моче с изменениями уробиома. Подтверждение роли метаболических изменений у детей с ПМР с рецидивирующими инфекциями мочевыделительной системы позволит разработать новый диагностический алгоритм ранней диагностики осложнений обструктивной патологии мочевыводящего тракта у детей.

## ■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Thomas-White K., et al. The bladder is not sterile: history and current discoveries on the urinary microbiome. *Current bladder dysfunction reports*. 2016;11:18–24.
2. Pastuszka A, Tobor S, Łoniewski I, Wierzbicka-Woś A, Sielatycka K, Styburski D, Cembrowska-Lech D, Koszutski T, Kurowicz M, Korlacka K, Podkówka A, Lemiński A, Brodziejewicz A, Hyla-Klekot L, Skonieczna-Żydecka K. Rewriting the urinary tract paradigm: the urobiome as a gatekeeper of host defense. *Mol Biol Rep*. 2025 May 23;52(1):497. doi: 10.1007/s11033-025-10609-w
3. Srivastava A, Shete O, Gulia A, Aggarwal S, Ghosh TS, Ahuja V, Anand S. Role of Gut and Urinary Microbiome in Children with Urinary Tract Infections: A Systematic Review. *Diagnostics (Basel)*. 2025 Jan 3;15(1):93. doi: 10.3390/diagnostics15010093
4. Kelly MS, Dahl EM, Jerjes LM, Sysoeva TA, Karstens L. Response to "Profiling the dynamic pediatric urobiome: Missing links and future directions!". *J Pediatr Urol*. 2024 Oct;20(5):896–897. doi: 10.1016/j.jpuro.2024.06.030
5. Jerjes LM, Sysoeva TA, Karstens L, Kelly MS. Synthesis of current pediatric urinary microbiome research. *Front Pediatr*. 2024 Jun 18;12:1396408. doi: 10.3389/fped.2024.1396408
6. Turov FO, Yatsyk SP, Krapivkin AI, Vrublevsky SG, Mamedov IS, Perevezentsev OA. Current understanding of the urinary tract microbiome in children. *Urologiya*. 2025 Mar;1(1):141–147. (in Russian)
7. Leung AKC, Wong AHC, Leung AAM, Hon KL. Urinary Tract Infection in Children. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov*. 2019;13(1):2–18. doi: 10.2174/1872213X13666181228154940
8. Naseri M, Tafazoli N, Tafazoli N. Prevalence of Vesicoureteral Reflux in Children with Urinary Tract Infection. *Saudi J Kidney Dis Transpl*. 2022 Aug;33(Supplement):S111–S120. doi: 10.4103/1319-2442.384183
9. Vitko D, McQuaid JW, Gheinani AH, Hasegawa K, DiMartino S, Davis KH, Chung CY, Petrosino JF, Adam RM, Mansbach JM, Lee RS. Urinary Tract Infections in Children with Vesicoureteral Reflux Are Accompanied by Alterations in Urinary Microbiota and Metabolome Profiles. *Eur Urol*. 2022 Feb;81(2):151–154. doi: 10.1016/j.eururo.2021.08.022
10. Birmingham KM, Brennan L, Segurado R, Barron RE, Gibney ER, Ryan MF, Gibney MJ, O'Sullivan AM. Genetic and Environmental Contributions to Variation in the Stable Urinary NMR Metabolome over Time: A Classic Twin Study. *J Proteome Res*. 2021 Aug 6;20(8):3992–4000. doi: 10.1021/acscjproteome.1c00319
11. Mamedov I.S., Sukhorukov V.S., Zolkina I.V., Savina M.I., Nikolaeva E.A. Evaluation of mass spectrometric indicators for the differential diagnosis of inherited disorders of organic acid metabolism in children. *Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*. 2019;64(1):61–67. doi: 10.21508/1027-4065-2019-64-1-61-67). (in Russian)

12. Weinberg JM, Venkatchalam MA, Roeser NF, Saikumar P, Dong Z, Senter RA, Nissim I. Anaerobic and aerobic pathways for salvage of proximal tubules from hypoxia-induced mitochondrial injury. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2000 Nov;279(5):F927-43. doi: 10.1152/ajprenal.2000.279.5.F927
13. Valayannopoulos V, Slama A, Chrétien D, Ricquier D, Marret S, Frebourg T, Rabier D, Munnich A, de Keyzer Y, Toulhoat H, de Lonlay P. Clinical and biochemical heterogeneity associated with fumarase deficiency. *Hum Mutat*. 2011 Sep;32(9):1046–52. doi: 10.1002/humu.21534
14. Chouchani ET, Pell VR, Gaude E, Aksentijević D, Sundier SY, Robb EL, Logan A, Nadtochiy SM, Ord ENJ, Smith AC, Eyassu F, Shirley R, Hu CH, Dare AJ, James AM, Rogatti S, Hartley RC, Eaton S, Costa ASH, Brookes PS, Davidson SM, Duchon MR, Saeb-Parsy K, Shattock MJ, Robinson AJ, Work LM, Frezza C, Krieg T, Murphy MP. Ischaemic accumulation of succinate controls reperfusion injury through mitochondrial ROS. *Nature*. 2014 Nov 20;515(7527):431–435. Epub 2014 Nov 5. doi: 10.1038/nature13909
15. Beloborodova N, Pautova A, Sergeev A, Fedotcheva N. Serum Levels of Mitochondrial and Microbial Metabolites Reflect Mitochondrial Dysfunction in Different Stages of Sepsis. *Metabolites*. 2019 Sep 20;9(10):196. doi: 10.3390/metabo9100196
16. Zhang Y, Zhou X, Zheng W, Chen J, Xu Q, Liang Z, Zhang H, Lin J, Xie W, Zhuo Y, Chen M, Zou F, Wen B, Tan Z, Zhong W, Yang H, Yang R. Metabolomic and Proteomic Analyses Unveil That Polyethylene Glycol-Polycaprolactone-Loaded Curcumin Nanoparticles Induce Mitochondrial Dysfunction and Metabolic Reprogramming to Suppress Melanoma Growth. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2025 Jun 11;17(23):33422–33438. doi: 10.1021/acsami.5c02854
17. Beebout CJ, Robertson GL, Reinfeld BJ, Blee AM, Morales GH, Brannon JR, Chazin WJ, Rathmell WK, Rathmell JC, Gama V, Hadjifrangiskou M. Uropathogenic *Escherichia coli* subverts mitochondrial metabolism to enable intracellular bacterial pathogenesis in urinary tract infection. *Nat Microbiol*. 2022 Sep;7(9):1348–1360. doi: 10.1038/s41564-022-01205-w



Khairi Hussein Ilyas✉, Tratsiakova V.  
Yanka Kupala State University of Grodno, Grodno, Belarus

# Criteria for Gender Differences in Assessing the Indicators of the Metabolic Relationship Between the Formation of Obesity and the Severity of Oxidative Stress and Inflammation

**Conflict of interest:** nothing to declare.

**Authors' contribution:** the concept and design of research, editing, processing – Tratsiakova V.; the concept and design of research, editing, processing, writing text – Khairi Hussein Ilyas.  
The article is published in author's edition.

Submitted: 18.12.2025

Accepted: 15.04.2026

Contacts: ajeenilyas@gmail.com

## Abstract

**Introduction.** Obesity represents a multifactorial metabolic disorder linked to chronic inflammation and oxidative stress.

**Purpose.** To establish gender differences in the indicators of the combined assessment of the metabolic manifestation of oxidative stress and inflammation with different degrees of excess body weight in men and women.

**Materials and methods.** A cross-sectional study was conducted at Nineveh General Hospital, affiliated with the Medical Research Unit of Al-Nahrain University, including 234 participants divided equally among three BMI-based categories: normal weight (18.5–24.9 kg/m<sup>2</sup>), overweight (25–29.9 kg/m<sup>2</sup>), and obese (>30 kg/m<sup>2</sup>). Each group comprised 26 control and 52 patient subjects. Blood samples were collected under aseptic conditions for measurement of CRP, superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), catalase (CAT), and malondialdehyde (MDA) using ELISA techniques. Data were analyzed using SPSS 27 and GraphPad Prism with a significant threshold of  $p < 0.05$ .

**Results.** The study included 78 subjects, with 26 assigned to the control subgroup and 52 to the patient subgroup. In the normal-weight category, serum CRP increased from  $0.34 \pm 0.40$  mg/dL in controls to  $0.46 \pm 0.07$  mg/dL in patients, while SOD activity rose from  $1.2 \pm 0.07$  to  $2.6 \pm 0.05$  U/mL and reached  $6.39 \pm 0.10$  U/mL in obese patients, indicating a marked oxidative imbalance. BMI in the normal-weight group showed a positive correlation with MDA ( $r = 0.294$ ,  $p = 0.035$ ), and GSH correlated strongly with CAT ( $r = 0.693$ ,  $p < 0.001$ ) and MDA ( $r = 0.608$ ,  $p < 0.001$ ). In contrast, the overweight group displayed weaker associations, with only a modest correlation between age and BMI ( $r = 0.295$ ,  $p = 0.034$ ).

**Conclusion.** The findings highlight obesity's strong association with inflammation and oxidative imbalance, underscoring the need for weight-management initiatives and regular biochemical screening to prevent chronic disease progression.

**Keywords:** oxidative stress, C-Reactive Protein, obesity, type 2 diabetes, cardiometabolic risk



Хайри Хуссейн Ильяс✉, Третьякова О.М.

Гродненский государственный университет имени Янки Купалы, Гродно, Беларусь

## Критерии гендерных различий в оценке показателей метаболической связи формирования ожирения с состоянием выраженности оксидативного стресса и воспаления

**Конфликт интересов:** не заявлен.

**Вклад авторов:** концепция и дизайн исследования, редактирование, обработка – Третьякова О.М.; концепция и дизайн исследования, редактирование, обработка, написание текста – Хайри Хуссейн Ильяс.

Статья опубликована в авторской редакции.

Подана: 18.12.2025

Принята: 15.04.2026

Контакты: ajeenilyas@gmail.com

### Резюме

**Введение.** Ожирение представляет собой мультифакторное метаболическое расстройство, связанное с хроническим воспалением и оксидативным стрессом.

**Цель.** Установить гендерные различия в показателях сочетанной оценки метаболического проявления оксидативного стресса и воспаления при разной степени избыточной массы тела у мужчин и женщин.

**Материалы и методы.** Исследование осуществлено на базе Больницы Ниневии в тесном сотрудничестве с представителями Научно-исследовательского медицинского подразделения Университета Аль-Нахраи. Обследованию подлежали 234 пациента, которые были разделены на три группы по индексу массы тела (ИМТ): с нормальными его показателями ( $18,5\text{--}24,9\text{ кг/м}^2$ ), с избыточной массой тела ( $25\text{--}29,9\text{ кг/м}^2$ ) и ожирением ( $>30\text{ кг/м}^2$ ). Каждая группа включала 78 участников, из них 26 практически здоровых лиц, составивших подгруппу контроля, и 52 пациента с повышенной массой тела. Биохимический анализ крови включал в себя определение содержания С-реактивного белка (CRP), активности супероксиддисмутазы (SOD), глутатионпероксидазы (GPx), каталазы (CAT), уровня малонового диальдегида (MDA) и глутатиона (GSH) методами иммуноферментного анализа (ИФА, ELISA). Полученные данные анализировались в SPSS 27 и GraphPad Prism со статистической значимостью  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Уровень сывороточного CRP увеличивался с  $0,34 \pm 0,40$  мг/дл (у лиц подгруппы контроля) до  $0,46 \pm 0,07$  мг/дл у пациентов с ожирением, в то время как активность SOD возрастала с  $1,2 \pm 0,07$  до  $2,6 \pm 0,05$  Ед/мл у пациентов с избыточной массой тела и достигала  $6,39 \pm 0,10$  Ед/мл у лиц с ожирением, что указывает на причастность к его формированию воспалительного процесса и оксидативного стресса. В подгруппе лиц с нормальной массой тела показатели ИМТ демонстрировали положительную корреляцию с уровнем MDA ( $r=0,294$ ,  $p=0,035$ ), а уровень GSH значительно коррелировал с таковыми CAT ( $r=0,693$ ,  $p<0,001$ ) и MDA ( $r=0,608$ ,  $p<0,001$ ). Напротив, в группе пациентов с избыточной массой тела связи оказались менее выраженными, выявлена лишь умеренная корреляция между возрастом и ИМТ ( $r=0,295$ ,  $p=0,034$ ).

**Заключение.** Полученные данные иллюстрируют тесную связь ожирения с воспалением и состоянием оксидативного стресса, что служит основанием к реализации программ по снижению массы тела и осуществлению регулярного биохимического мониторинга с целью предотвращения прогрессирования в организме нарушений липидного обмена, влекущего за собой формирование сахарного диабета 2-го типа и кардиальной патологии.

**Ключевые слова:** окислительный (оксидативный) стресс, С-реактивный белок, ожирение, сахарный диабет 2-го типа, кардиометаболический риск

---

## ■ INTRODUCTION

Obesity has become one of the most critical global health challenges of the twenty-first century, affecting individuals across all age groups and socioeconomic backgrounds. It is a complex, multifactorial condition characterized by excessive accumulation of adipose tissue that results from an imbalance between caloric intake and energy expenditure. According to the World Health Organization (2024), the global prevalence of obesity has tripled since 1975, with more than 1.9 billion adults classified as overweight and over 650 million as obese. In Iraq, a rapid growing of obesity percentage became a great disaster that may threaten the community health status. This growing epidemic is strongly associated with numerous metabolic disturbances, including insulin resistance, type 2 diabetes mellitus, hypertension, dyslipidemia, and cardiovascular diseases. However, recent evidence suggests that the biological mechanisms underlying these complications may also involve chronic low-grade inflammation and increased oxidative stress, both of which play central roles in the pathogenesis of obesity-related disorders [1–5].

C-Reactive Protein (CRP) is a key biomarker of systemic inflammation synthesized primarily by hepatocytes in response to interleukin-6 and other pro-inflammatory cytokines. Elevated CRP concentrations are consistently linked to obesity and metabolic syndrome, reflecting the inflammatory burden imposed by adipose tissue dysfunction. Adipocytes, particularly in visceral fat depots, secrete cytokines such as tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-1 $\beta$ , which stimulate hepatic CRP production [6–8].

As well, the oxidative stress defined as an imbalance between reactive oxygen species (ROS) generation and antioxidant defense mechanisms exacerbates cellular damage and contributes to lipid peroxidation, protein modification, and DNA injury. The interplay between oxidative stress with different oxidative markers and inflammation forms a vicious cycle that amplifies metabolic disturbances, making their combined evaluation essential in understanding the biochemical landscape of obesity [9–13].

Gender differences play a significant role in modulating obesity-related metabolic pathways. Men and women exhibit distinct fat distribution patterns, hormonal profiles, and immune responses that can influence inflammatory and oxidative stress markers differently. Estrogen, for instance, possesses antioxidant properties and modulates lipid metabolism, potentially offering some protection to premenopausal women against oxidative damage. Conversely, the decline in estrogen after menopause is associated with increased adiposity and inflammation. Males, on the other hand, tend to accumulate more visceral fat, which is metabolically active and strongly linked to higher CRP levels and



oxidative stress indices. Therefore, investigating gender-specific biochemical variations provides deeper insight into the mechanisms linking obesity with systemic inflammation and oxidative imbalance [14–21].

Understanding comprehensive biochemical analysis that explores how obesity correlates with CRP levels and oxidative stress parameters across genders may reveal critical pathways underlying metabolic risk. Such data could guide clinicians in tailoring prevention and management programs based on gender-specific vulnerabilities, improving outcomes in obesity-related diseases [22–24].

## ■ PURPOSE OF THE STUDY

To establish gender differences in the indicators of the combined assessment of the metabolic manifestation of oxidative stress and inflammation with different degrees of excess body weight in men and women.

## ■ MATERIALS AND METHODS

### **Population and Setting of the Study**

The study was carried out at Nineveh General Hospital, affiliated with the Medical Research Unit of Al-Nahrain University. The study included a total of 234 participants. The inclusion criteria was individuals who did not have Type 2 diabetes (T2DM) or any other chronic diseases. While subjects were removed if their waist and neck measurements could not be obtained by the researchers.

### **Body Mass Index Measurement and Interpretation**

Each group consisted of 78 participants with different ages. There were three primary categories: the Normal Weight Group (BMI 18.5–24.9), the Overweight Group (BMI 25–29.9), and the Obese Group [BMI >30]. Participants in each BMI category were then classified into two subgroups: control and patients. The control subgroups consisted of 26 people each, whereas the patients' subgroups consisted of 52 persons of each group.

### **Antioxidant Assessment**

The subjects' blood samples were obtained using aseptic syringes. The samples were extracted from the individuals' veins, usually from the arm. Every blood sample was obtained and placed into a properly labeled sterile tube. Following collection, blood samples were promptly stored in a refrigerator at a temperature of 4 °C.

The plate has been pre-coated with Malondialdehyde (MDA) protein. Samples are introduced into the suitable wells of a microtiter plate. Subsequently, Avidin is attached to HRP. Then TMB Solution was added. The resulting change in color is then quantitatively assessed using spectrophotometry at a specific wavelength of 532 nm ± 10 nm.

The Human SOD ELISA Kit functions based on the premise of a sandwich enzyme immunoassay. This technique utilizes a plate that has been previously coated with an antibody that specifically targets SOD. Subsequently, a biotin-conjugated antibody that targets SOD is introduced to create a complex between the antibody and the antigen. Subsequently, HRP conjugated to Avidin is introduced. Following incubation with the TMB Solution. The process is stopped using a stop solution, and the intensity of the color measured at 450 nm. The plate included in this kit was pre-coated with Human GPX protein. Standards or samples were introduced into the suitable wells, together with a

biotin-conjugated antibody that is specific to Human GPX. Subsequently, HRP conjugate was introduced. Then TMB Solution was added. The resulting change in color was then detected at  $450 \text{ nm} \pm 10 \text{ nm}$ .

The plate included in the kit was already coated with an antibody that specifically targets CAT. CAT-specific biotin-conjugated antibodies were introduced to the relevant wells. Subsequently, HRP conjugate was introduced. Upon the addition of the TMB Solution. The enzyme-substrate reaction was stopped, and the alteration in color was quantified using spectrophotometry at  $450 \text{ nm} \pm 10 \text{ nm}$ .

### C-reactive Protein Assay

The CRP was evaluated by Human CRP [C-Reactive Protein] ELISA Kit (Cat: ELK1040), ELK Biotechnology CO., Ltd (Chian). The Human C-Reactive Protein ELISA Kit (Cat: ELK1040) is specifically developed for the precise and quantitative determination of CRP levels in humans. This kit employs a sandwich enzyme immunoassay method, in which a microtiter plate is coated in advance with an antibody that specifically targets human CRP. Additionally, a biotin-conjugated antibody is introduced, and the magnitude of the color is quantified at 450 nm.

It was calculated the average of the readings that were taken more than once for each Standard, Control, and Sample. The CRP content was plotted on the y-axis, and the absorption was plotted on the x-axis to make a standard curve (Fig. 1).

### Statistical Analysis

The statistical analyses were performed utilizing SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) version 27.0 and GraphPad Prism. A significant threshold of  $p < 0.05$  was set for all statistical tests. ANOVA tests were employed to find the correlations between and in groups.

## ■ RESULTS

From a total of 78 subjects for each weight group, divided into 62 for controls and 52 for patients. And upon assessing the obesity degrees, the BMI was measured (Fig. 2).

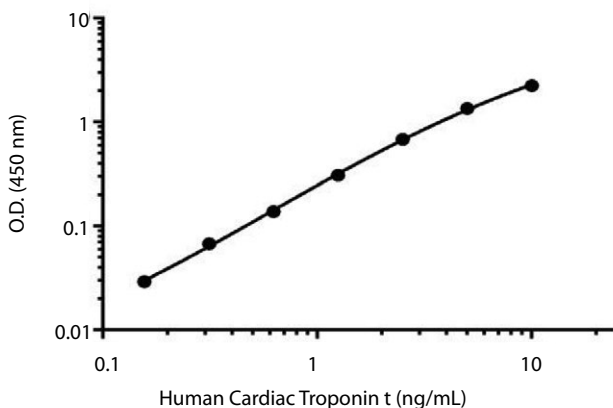
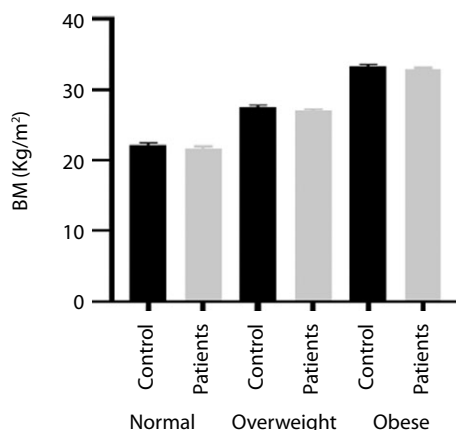


Fig. 1. The CRP standard curve



**Fig. 2. The distribution of BMI among the weight-based groups**

The gender and BMI correlation was investigated and set in the Table 1. The weight groups (normal, overweight and obesity) presented that there are a significant difference in their BMI ( $p < 0.05$ ). There are significant differences in gender variability between each group ( $p > 0.05$ ) while there is no significant difference between normal, overweight, and obesity groups ( $p < 0.05$ ).

### CRP as Inflammatory Marker

Within the normal weight category, there is a notable and meaningful positive relationship between age and CRP. This suggests that as individuals get older, their CRP levels tend to increase, indicating a rise in inflammation. There is no significant correlation between age and other parameters in the normal weight group. Gender exhibits notable inverse connections with many factors among different weight categories. Within the normal weight group,

BMI exhibits strong positive relationships with several indicators, indicating its crucial significance in cardiovascular well-being. Within the normal weight category, there is

**Table 1**  
**Comparison of gender and BMI among three weight-based groups (n=78 for each, Controls=62 and Patients=52)**

		Normal weight group		Overweight group		Obesity group	
		Control, n=26	Patient, n=52	Control, n=26	Patient, n=52	Control, n=26	Patient, n=52
Gender	Male, n [%]	14 (53.8%)*	27 (51.9%)	14 (53.8%)*	27 (51.9%)	14 (53.8%)*	27 (51.9%)
	Female, n [%]	12 (46.2%)	25 (48.1%)	12 (46.2%)	25 (48.1%)	12 (46.2%)	25 (48.1%)
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]		22.18±0.35	21.75±0.25	27.51±0.29	27.09±0.19	33.35±0.28	32.93±0.21

Notes: \*  $p < 0,05$  compared of patients and control groups for each weight group using two-way ANOVA test.

**Table 2**  
**The correlation between CRP as marker and gender variability among different weight-based groups**

		Normal weight group		Overweight group		Obesity group	
		Control	Patient	Control	Patient	Control	Patient
Gender	Male, n [%]	14 (53.8%)	27 (51.9%)	14 (53.8%)	27 (51.9%)	14 (53.8%)	27 (51.9%)
	Female, n [%]	12 (46.2%)	25 (48.1%)	12 (46.2%)	25 (48.1%)	12 (46.2%)	25 (48.1%)
CRP [mg/dl]		0.34±0.4	0.46±0.07	0.34±0.04#	0.59±0.11*#	0.42±0.06*	0.72±0.16*#

Notes: \* p<0.05 compared of patients and control groups for each weight group using two-way ANOVA test; # p<0.05 compared of patients groups across the weight-based groups using two-way ANOVA test.

a positive correlation between BMI and CRP. This suggests that higher BMI is linked to heightened inflammation, cardiac strain, and an elevated risk of heart failure. Within the overweight group, there is a positive association between BMI and CRP. This suggests that greater BMI is linked to increased inflammation and cardiac stress. Within the obesity group, there are notable positive associations between BMI and CRP. These findings suggest that greater BMI in obese individuals is closely linked to heightened levels of inflammation, cardiac strain, and an elevated risk of heart failure.

CRP, a marker of inflammation, exhibits strong positive associations with several parameters. The higher levels of inflammation are linked to increased cardiac stress and a greater risk of heart failure. Within the overweight cohort, the increased inflammation is linked to heightened cardiac stress (Table 2).

### Oxidative Stress Markers

In the normal weight control group, when comparing the biochemical parameters, we noticed that the most significant biochemical parameters is GPx. While in the normal weight Patient group, when comparing the biochemical parameters, we noticed that the most significant biochemical parameters is GPx and CAT. There may be a priority in importance and influence of GPx more than CAT by a small margin. The rest of the biochemical parameters were less significant, indicating that their influence was less compared to GPx and CAT (Table 3).

So, in the Overweight control group, when comparing the biochemical parameters, we noticed that the most significant correlations of biochemical parameters is GPx and CAT. There may be a priority in importance and influence of GPx more than CAT by a small margin. The rest of the biochemical parameters were less significant, indicating that their influence was less compared to GPx and CAT. While in the Overweight Patient group, when comparing the biochemical parameters, we noticed that the most significant biochemical parameters were GPx and CAT. There may be a priority in importance and influence of GPx more than CAT by a small margin. The rest of the biochemical parameters were less significant, indicating that their influence was less compared to GPx and CAT.

In the Obesity control group, when comparing the biochemical parameters, we noticed that the most significant biochemical parameters is GPx. While in the Obesity Patient group, when comparing the biochemical parameters, we noticed that the most significant biochemical parameters is GPx. An increase in the level of oxidative stress in patients with diabetes with an increase in body mass index was proven, as indicated by



**Table 3**  
**The correlation between oxidative stress markers marker and gender variability among different weight-based groups**

		Normal weight group		Overweight group		Obesity group	
		Control	Patient	Control	Patient	Control	Patient
Gender	Male, n [%]	14 (53.8%)	27 (51.9%)	14 (53.8%)	27 (51.9%)	14 (53.8%)	27 (51.9%)
	Female, n [%]	12 (46.2%)	25 (48.1%)	12 (46.2%)	25 (48.1%)	12 [46.2%]	25 (48,1%)
SOD [U/mL]		1.2±0,07	2.6±0.05	1.34±0.08#	4.19±0.04*#	1.9±0.42#	6.39±0.10*#
GPx [nmol/mL]		22,5±0,54	35.5±0.42	24.1±0.26#	49.6±0.36*#	42.1±0.08*#	68.5±0.28*#
CAT [U/mL]		42.42±9.6	57.71±1.4	35.75±2.73*#	32.7±1.35*#	25.7±31*#	14.9±9.1*#
MDA [µM]		1.43±0.28	1.7±0.11	1.10±0.04*#	1.90±0.05*#	2.58±0.26*#	3.4±0.94*#

Notes: \* p<0.05 compared of patients and control groups for each weight group using two-way ANOVA test; # p<0.05 compared of patients groups across the weight-based groups using two-way ANOVA test.

an increase in the content of lipid peroxidation products, superoxide dismutase activity, glutathione peroxidase.

It has been noted that there were no significant relationships between age and oxidative stress indicators GSH, SOD, CAT, or MDA. This implies that age may not exert a significant influence on oxidative stress measures in persons with normal weight. There was a strong negative relationship between gender and BMI, with a correlation coefficient of -0.431. The BMI exhibited a notable positive connection with the CAT, indicating that higher BMI is linked to elevated levels of CAT. The BMI exhibited a non-significant but positive connection with GSH and MDA, suggesting a possible inclination towards elevated oxidative stress as BMI increases. GSH exhibited strong positive associations with CAT and MDA, and a notable negative connection with SOD. The SOD enzyme showed strong negative associations with GSH and MDA, and a substantial positive connection with CAT. This suggests that elevated SOD levels are linked to decreased levels of GSH and

**Table 4**  
**Correlation between all oxidative stress parameters in normal wright group**

Normal weight group		Age	BMI	GSH	SOD	CAT	MDA
Age	Pearson Correlation	1	0.27	0.136	-0.003	0.154	0.153
	Sig. (2-tailed)		0.053	0.335	0.981	0.277	0.278
BMI	Pearson Correlation	0.27	1	0.172	-0.057	0.294*	0.205
	Sig. (2-tailed)	0.053		0.224	0.69	0.035	0.145
GSH	Pearson Correlation	0.136	0.172	1	-0.431**	0.693**	0.608**
	Sig. (2-tailed)	0.335	0.224		0.001	0	0
SOD	Pearson Correlation	-0.003	-0.057	-0.431**	1	-0.287*	-0.390**
	Sig. (2-tailed)	0.981	0.69	0.001		0.039	0.004
CAT	Pearson Correlation	0.154	0.294*	0.693**	-0.287*	1	0.636**
	Sig. (2-tailed)	0.277	0.035	0	0.039		0
MDA	Pearson Correlation	0.153	0.205	0.608**	-0.390**	0.636**	1
	Sig. (2-tailed)	0.278	0.145	0	0.004	0	

MDA, as well as reduced levels of CAT. CAT enzyme exhibited strong positive associations with GSH and MDA, as well as a notable negative connection with SOD. The level of MDA showed strong positive associations with GSH and CAT, and a notable negative association with SOD (Table 4).

There was a clear and meaningful connection between age and BMI, with a positive correlation coefficient of 0.295 and a significant level of  $p < 0.05$ . Gender demonstrated a significant inverse association with BMI, but did not exhibit significant relationships with GSH, SOD, CAT, or MDA. The overweight group did not exhibit any significant relationships between BMI and GSH, SOD, CAT, or MDA. This suggests that BMI may not be a reliable

**Table 5**  
Correlation between all oxidative stress parameters in normal wright group

Overweight group		Age	BMI	GSH	SOD	CAT	MDA
Age	Pearson Correlation	1	0.295*	-0.1	0.081	-0.021	0.074
	Sig. (2-tailed)		0.034	0.64	0.568	0.885	0.602
BMI	Pearson Correlation	0.295*	1	0.05	0.1	0.014	-0.004
	Sig. [2-tailed]	0.034		0.72	0.48	0.923	0.979
GSH	Pearson Correlation	-0.07	0.05	1	0.204	-0.254	0.056
	Sig. (2-tailed)	0.644	0.724		0.146	0.069	0.694
SOD	Pearson Correlation	0.081	0.1	0.2	1	-0.183	-0.077
	Sig. (2-tailed)	0.568	0.48	0.15		0.193	0.587
CAT	Pearson Correlation	-0.02	0.014	-0.3	-0.183	1	0.01
	Sig. (2-tailed)	0.885	0.923	0.07	0.193		0.946
MDA	Pearson Correlation	0.074	-0.004	0.06	-0.077	0.01	1
	Sig. (2-tailed)	0.602	0.979	0.69	0.587	0.946	

**Table 6**  
Correlation between all oxidative stress parameters in normal wright group

Obesity group		Age	BMI	GSH	SOD	CAT	MDA
Age	Pearson Correlation	1	0.131	-0.3	0.163	-0.137	-0.16
	Sig. (2-tailed)		0.356	0.05	0.247	0.334	0.257
BMI	Pearson Correlation	0.131	1	0.15	-0.004	0.059	-0.179
	Sig. (2-tailed)	0.356		0.29	0.979	0.677	0.205
GSH	Pearson Correlation	-0.27	0.151	1	-0.262	0.289*	-0.06
	Sig. (2-tailed)	0.054	0.287		0.061	0.038	0.67
SOD	Pearson Correlation	0.163	-0.004	-0.3	1	0.087	-0.049
	Sig. (2-tailed)	0.247	0.979	0.06		0.539	0.728
CAT	Pearson Correlation	-0.14	0.059	0.289*	0.087	1	-0.066
	Sig. (2-tailed)	0.334	0.677	0.04	0.539		0.64
MDA	Pearson Correlation	-0.16	-0.179	-0.1	-0.049	-0.066	1
	Sig. (2-tailed)	0.257	0.205	0.67	0.728	0.64	

Notes: \* a significant correlation at  $p < 0.05$ ; \*\* a significant correlation at  $p < 0.01$ .



predictor of oxidative stress in overweight persons. No significant associations were seen between the levels of GSH, SOD, CAT, or MDA in the overweight group. The obesity group did not exhibit significant associations between BMI and GSH, SOD, CAT, or MDA. The study found a strong positive association between GSH and CAT, indicating that higher levels of GSH are linked to higher levels of CAT. No significant associations were seen between the levels of SOD, CAT, or MDA in the obese group (Table 5, 6).

## ■ DISCUSSION

Obesity is increasingly recognized as a chronic inflammatory and oxidative disorder contributing to metabolic and cardiovascular diseases. The present study aimed to analyze biochemical variations between males and females in the correlation among obesity indices, C-reactive protein concentrations, and oxidative stress markers. The findings demonstrate that elevated body mass index was positively associated with higher CRP concentrations and increased oxidative stress markers such as superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase, and malondialdehyde. These outcomes support the concept that excessive adiposity exacerbates both inflammation and oxidative imbalance regardless of gender.

In this study, it has been observed that CRP levels rose significantly with BMI agrees with several investigations linking obesity with chronic low-grade inflammation [1–4]. Adipocytes release tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-6 that stimulate hepatic CRP synthesis [5–7]. Mohamed-Ali et al. first described adipose tissue as a major cytokine source [8]. Visser et al. found a positive trend between CRP and adiposity even among healthy adults [9]. Similar relationships were demonstrated by Park et al. in Korean adults [10]. Ridker et al. N observed that inflammatory biomarkers predict cardiovascular risk independently of lipid profile [11].

The lack of marked gender differences in CRP within our data corresponds with results from Thorand et al. who reported that gender variance diminishes after adjusting for adiposity [12]. Khera et al. similarly found minimal sex-based differences in inflammatory response once fat distribution was considered [13]. These findings imply that obesity per se, rather than sex hormones, drives systemic inflammation.

The positive correlations between CRP observed in overweight and obese subjects in the present study underscore the cardiometabolic burden of obesity. Danesh et al. demonstrated a direct relation between CRP and vascular injury markers [14]. Bahrami et al. linked obesity-associated inflammation with subclinical myocardial dysfunction [15].

Elevated oxidative stress indices in our cohort agree with evidence that obesity enhances reactive oxygen species generation and reduces antioxidant reserves [16–19]. Furukawa et al. reported increased lipid peroxidation with higher BMI [20]. Marseglia et al. emphasized GPx activation as a compensatory antioxidant response [21]. Vincent et al. confirmed that chronic oxidative load in obesity elevates GPx while impairing SOD activity [22]. The reciprocal patterns of GPx and CAT observed here are consistent with the adaptive antioxidant cycle described by Dandona et al. wherein oxidative stress stimulates both enzymatic and inflammatory cascades [23].

The interrelation between CRP and oxidative stress in this study reflects the feedback loop highlighted by Roberts and Sindhu who proposed that reactive oxygen species induce cytokine expression, perpetuating inflammation [24]. Positive associations between CRP in obese individuals reinforce the cardiac oxidative-inflammatory hypothesis supported

by Wang et al. [25]. Our data therefore confirm that BMI is a principal determinant of both inflammatory and oxidative status.

Comparable biochemical disruptions have been reported regionally. Al-Zubaidi HJ, Al-Badr AA, Al-Hilli MA, Al-Zubaidi MJ and Al-Hamdani AA showed elevated MDA and reduced antioxidant enzymes in Iraqi adults with obesity [26]. Al-Fartosi et al. documented similar findings in Basrah populations [27]. These outcomes parallel international results by Khan et al. [28] and El-Shahat et al. [29]. Collectively, these studies affirm that oxidative stress and inflammation are universal consequences of adiposity.

## ■ CONCLUSIONS

1. Obesity in both genders was associated with higher inflammatory and oxidative indices, while gender had a minor influence compared with BMI.
2. The integration of CRP and antioxidant markers offers a valuable biochemical approach to assess cardiometabolic risk.
3. There was a strong and positive relationship between CRP levels and getting older in age and higher body mass index (BMI).
4. Glutathione peroxidase (GPx), as an oxidative stress marker, is the highest and most significant marker among normal weight groups.
5. Age was only correlated with GPx, not correlated with any of the oxidative stress markers (GSH, SOD, catalase, and MDA).

Future national initiatives in Iraq should emphasize large-scale awareness programs on the health hazards of obesity, promote weight-loss interventions, and encourage routine biochemical screening for CRP and oxidative markers to enable early detection of chronic disease risk. More health campaigns in Iraq is crucial to be conducted to declare about importance of weight loss and regular screening for population about their biochemical markers related to chronic diseases.

---

## ■ REFERENCES

1. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- $\alpha$ : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*. 1993;259:87–91.
2. Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest*. 2005;115:1111–9.
3. Salah AN, Aboelyazed AM, Waseem AM, et al. The practice and knowledge among community pharmacists about dispensing antibiotics in Egypt; a cross-sectional study. *Microbes and Infectious Diseases*. 2025 May 1;6(2):575–87.
4. Yudkin JS, Stehouwer CD, Emeis JJ, Coppack SW. C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19:972–8.
5. Festa A, D'Agostino R, Tracy RP, Haffner SM. Elevated levels of acute-phase proteins and plasminogen activator inhibitor-1 predict the development of type 2 diabetes. *Circulation*. 2002;105:863–9.
6. Tilg H, Moschen AR. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation, and immunity. *Nat Rev Immunol*. 2006;6:772–83.
7. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994;372:425–32.
8. Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, et al. Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor- $\alpha$ , in vivo. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82:4196–200.
9. Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, et al. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *JAMA*. 1999;282:2131–5.
10. Park HS, Park JY, Yu R. Relationship of obesity and high-sensitivity C-reactive protein according to sex and age. *Int J Obes*. 2005;29:1070–6.
11. Ridker PM, Buring JE, Cook NR, Rifai N. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of cardiovascular events. *Circulation*. 2003;107:391–7.
12. Thorand B, Baumert J, Kolb H, et al. Sex differences in the relation of body composition to markers of inflammation. *Diabetes Care*. 2006;29:1633–7.
13. Khera A, McGuire DK, Murphy SA, et al. Relationship between C-reactive protein and subclinical atherosclerosis. *Circulation*. 2005;111:1950–7.
14. Danesh J, Wheeler JG, Hirschfeld GM, et al. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *N Engl J Med*. 2004;350:1387–97.
15. Bahrami H, Bluemke DA, Kronmal R, et al. Novel metabolic risk factors for incident heart failure and their relationship with obesity. *Circulation*. 2008;117:2693–701.
16. Contreras-Zentella ML, Hernández-Muñoz R. Possible gender influence in the mechanisms underlying the oxidative stress, inflammatory response, and the metabolic alterations in patients with obesity and/or type 2 diabetes. *Antioxidants*. 2021 Oct 29;10(11):1729.

17. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest.* 2004;114:1752–61.
18. Salah AN, Abdulkader AO, Gabr HY, et al. The transfusion-transmitted infections overview, unveiling the novelist screening approaches. *Microbes and Infectious Diseases.* 2025 May 1;6(2):588–602.
19. Marseglia L, Manti S, D'Angelo G, et al. Oxidative stress in obesity: a critical component in human diseases. *Oxid Med Cell Longev.* 2014;2014:1–10.
20. Vincent HK, Taylor AG, Kenney K, Bruns TM. Antioxidant supplementation and exercise stress in obesity. *Metabolism.* 2006;55:255–62.
21. Dandona P, Aljada A, Chaudhuri A, et al. Metabolic syndrome: inflammation, oxidative stress, and therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:4673–8.
22. Hemdan M, Mageed SS, Abulsoud AI, et al. Approaches based on miRNAs in Behçet's Disease: Unveiling pathogenic mechanisms, diagnostic strategies, and therapeutic applications. *Life Sciences.* 2024 Oct 1;354:122950.
23. Roberts CK, Sindhu KK. Oxidative stress and metabolic syndrome. *Life Sci.* 2009;84:705–12.
24. Wang TJ, Larson MG, Levy D, et al. Plasma natriuretic peptide levels and the risk of cardiovascular events and death. *Circulation.* 2004;109:594–600.
25. Al-Zubaidi HJ, Al-Badr AA, Al-Hilli MA, et al. Evaluation of oxidative stress markers in Iraqi obese adults. *Iraqi J Biotechnol.* 2020;19:14–22.
26. Al-Fartosi KG, Al-Shawi NN, Al-Thuwaini TM, Al-Zubaidi EA. Oxidative stress biomarkers in obese individuals in Basrah. *Basrah J Vet Res.* 2013;12:68–75.
27. Salah AN, Elleboudy NS, Farag MM, et al. Immunomodulatory effects of chitosan oligosaccharides produced by chitosanase from Bacillus isolate. *AMB Express.* 2025 Oct 13;15(1):149.
28. El-Shahat AE, Mansour HA, Mohamed AK, El-Saied SM. Relationship between obesity, oxidative stress and inflammation in Egyptian adults. *Egypt J Biochem Mol Biol.* 2015;33:49–60.
29. Park CH, Do JG, Lee YT, Yoon KJ. Sarcopenic obesity associated with high-sensitivity C-reactive protein in age and sex comparison: a two-center study in South Korea. *BMJ open.* 2018 Sep 1;8(9):e021232.



Huda Muhanna Redha Al-Hamashi✉, Ali Hamdan Abdullah Abaas Almosawy,  
Raghda Hatem Omran, Fatima Samir Abdel Razak  
Al-Swaira Technical Institute, Al-Kut, Iraq

# Assessment of Features of Biochemical Factors Associated with the Inflammatory Process and Their Impact on the Count and Morphological Structure of Blood Platelets in Individuals with Intestinal Damages Due to Ulcerative Colitis

**Conflict of interest:** nothing to declare.

**Authors' contribution:** Huda Muhanna Redha Al-Hamashi – conceptualization, data curation, investigation, methodology, project administration, resources, software, validation, visualization, writing – original draft and writing – review & editing; Ali Hamdan Abdullah Abaas Almosawy – conceptualization, data curation, investigation, method, project administration, validation, visualization, writing – original draft and writing – review & editing; Raghda Hatem Omran – conceptualization, data curation, investigation, methodology, project administration, writing – original draft and writing – review & editing; Fatima Samir Abdel Razak – conceptualization, data curation, project administration, resources, software, supervision, validation, visualization and writing – review & editing.

The article is published in author's edition.

Submitted: 24.01.2026

Accepted: 27.04.2026

Contacts: [huda.mohanna@mtu.edu.iq](mailto:huda.mohanna@mtu.edu.iq)

## Abstract

**Introduction.** The cause of ulcerative colitis, also known as colitis ulcerosa, is unclear. It is non-specific inflammatory bowels illness. The critical component that connects the processes of hemostasis, inflammation, and tissue healing is blood platelets.

**Purpose.** To determine whether changes in ulcerative colitis patients were associated with an increase in blood platelets, alterations in blood platelet shape and activation are associated with elevated platelet counts.

**Materials and methods.** A total of 65 healthy individuals (as controls) and 35 individuals with UC were included in the study. Using an ADVIA 123 a hematology analyzer, the mean platelet count, MPC, and platelet morphological characteristics were measured. Immunoassay was used to measure the concentrations of Interleukin-6 and soluble P-selectin in serum (ELISA). Subjects with UC had considerably greater MPC, soluble P-selectin, and Interleukin-6 concentrations than those in the healthy group. Venous blood samples for biochemical testing were collected using vacuum tubes, which increased the reliability of the results obtained during the preclinical phase of the study.

**Results.** Patients with UC had a statistically significant reduction in mean platelet count (MPV). An increase in leukocyte and blood platelet counts, a rise in Interleukin-6 concentrations, and anemia are the symptoms that are seen during UC obtained. Thus, the mean platelet count (MPC) in patients with ulcerative colitis was  $301.56 \pm 111.95$  g/L, whereas in the group of apparently healthy individuals it was  $245 \pm 44.74$  g/L ( $p < 0.01$ ), and the mean platelet volume (MPV) was  $8.08 \pm 1.86$  (FL); in the group of essentially healthy individuals, it was  $9.34 \pm 0.67$  (FL),  $p < 0.05$ . The IL-6 level in ulcerative colitis was  $7.05 \pm 5.37$  [pg/ml, g/l], and in apparently healthy individuals  $8.26 \pm 7.59$  [pg/ml],  $p < 0.001$ ;



and the concentration of soluble P-selectin (sP-selectin) was  $23.44 \pm 21.83$  and  $8.26 \pm 7.59$  [ng/ml], respectively ( $p < 0.001$ ). High levels of soluble P-selectin are considered an indicator of inflammatory activation and a marker of platelet activation. A positive correlation between increased interleukin-6 concentrations and increased soluble P-selectin levels may be interpreted as an indicator of pathological process activation in ulcerative colitis.

**Conclusion.** Patients with UC who have chronic inflammation have higher blood platelet counts, altered a modification in their stimulation and morphology. A lower MPV number indicates stimulate and the part blood platelets play in the colon's mucous membrane inflammatory process. High ranks of soluble P-selectin indicate their involvement in the inflammatory process.

**Keywords:** blood platelet, soluble P-selectin, Interleukin -6, mean platelet volume, UC

Худа Муханна Редха Аль-Хамаша✉, Али Хамдан Абдулла Абас Альмосави,  
Рагда Хатем Омран, Фатима Самир Абдель Разак  
Технический институт Аль-Свайра, Аль-Кут, Ирак

## Оценка особенностей состояния биохимических факторов воспалительного процесса и их влияния на количественное содержание и морфологическую структуру тромбоцитов у лиц, страдающих повреждением кишечника при язвенном колите

**Конфликт интересов:** не заявлен.

**Вклад авторов:** Худа Муханна Редха Аль-Хамаша – концепция, обработка данных, проведение исследований, методология, ведение проекта, ресурсы, программное обеспечение, проверка достоверности полученных результатов, визуализация, написание чернового варианта статьи, редактирование; Али Хамдан Абдулла Абас Альмосави – концепция, обработка данных, проведение исследований, методология, ведение проекта, проверка достоверности полученных результатов, визуализация, написание чернового варианта статьи, редактирование; Рагда Хатем Омран – концепция, обработка данных, проведение исследований, методология, ведение проекта, написание чернового варианта статьи, редактирование; Фатима Самир Абдель Разак – концепция, научное руководство, обработка данных, ведение проекта, ресурсы, программное обеспечение, проверка достоверности полученных результатов, визуализация, редактирование текста статьи.

Статья опубликована в авторской редакции.

Подана: 24.01.2026

Принята: 27.04.2026

Контакты: [huda.mohanna@mtu.edu.iq](mailto:huda.mohanna@mtu.edu.iq)

### Резюме

**Введение.** Язвенный колит (colitis ulcerosa) – неспецифическое воспалительное заболевание кишечника, причина возникновения которого до конца не ясна. Ключевым морфологическим компонентом, оказывающим сочетанное влияние на процессы гемостаза, воспаления и заживления тканей, являются тромбоциты.

**Цель.** Установить особенности изменения количества, функционального состояния и морфологической структуры тромбоцитов, а также биохимических факторов воспаления у пациентов, страдающих язвенным колитом.

**Материалы и методы.** В исследование было включено 65 практически здоровых людей (составивших контрольную группу) и 35 пациентов с язвенным колитом в возрасте от 17 до 65 лет (из них 16 мужчин, 19 женщин). С использованием автоматического гематологического анализатора ADVIA 123 определяли среднее количество тромбоцитов (МРС) и их морфологические характеристики. Для оценки выраженности воспалительного процесса устанавливали концентрацию интерлейкина-6 (IL-6) и растворимого Р-селектина в сыворотке крови методами иммуноферментного анализа (ELISA). Взятие венозной крови для выполнения биохимических исследований осуществляли с применением вакутейнеров, что способствовало повышению надежности получаемых результатов на доклиническом этапе исследования.

**Результаты.** Показано, что у пациентов с язвенным колитом среднее количество тромбоцитов (МРС), растворимого Р-селектина и интерлейкина-6 значительно выше, чем у представителей контрольной группы, на фоне снижения при заболевании среднего объема тромбоцитов (MPV). Так, МРС у пациентов с язвенным колитом составило  $301,56 \pm 111,95$  г/л, тогда как в группе практически здоровых лиц –  $245 \pm 44,74$  г/л ( $p < 0,01$ ), а MPV –  $8,08 \pm 1,86$  (FL), в группе практически здоровых лиц –  $9,34 \pm 0,67$  (FL),  $p < 0,05$ . Уровень IL-6 при язвенном колите составил  $7,05 \pm 5,37$  г/л, а у практически здоровых лиц –  $8,26 \pm 7,59$  г/л,  $p < 0,001$ ; содержание растворимого селектина (sP-selectin) –  $23,44 \pm 21,83$  и  $8,26 \pm 7,59$  нг/л соответственно ( $p < 0,001$ ). Высокий уровень sP-selectin расценивается как индикатор активации воспалительного процесса и как маркер активации тромбоцитов крови. Положительная корреляция между увеличением концентрации IL-6 и увеличением содержания sP-selectin может расцениваться как индикатор активации патологического процесса при язвенном колите.

**Заключение.** У пациентов с язвенным колитом, сопровождаемым хроническим воспалением, установлено статистически значимое увеличение МРС и снижение MPV на фоне увеличения концентрации биохимических факторов воспаления IL-6 и Р-селектина, что отражает их участие в патогенезе заболевания.

**Ключевые слова:** тромбоциты, растворимый Р-селектин, интерлейкин-6, среднее количество тромбоцитов (МРС), средний объем тромбоцитов (MPV), язвенный колит (ЯК)

---

## ■ INTRODUCTION

Colitis ulcerosa, often known as ulcerative colitis, is a chronic, incurable illness that has flare-ups and remissions. In addition to bacterial, environmental, and genetic factors, abnormalities of the intestinal immune system can also be responsible for ulcerative colitis. Due to a disparity between pro- and anti-inflammatory cytokines, immunological problems play a major role in the pathogenesis of UC [1, 2]. Increased numbers of macrophages and T and B lymphocytes are found in the mucosal membrane in non-specific inflammatory bowel disease that is active. Additionally, granulocytes are activated, and IgG is produced in addition to the local excretion of cytokines (such as Interleukin-8, Interleukin-6, Interleukin-1, and tumor necrotic factor- $\alpha$ ) [3, 4]. The features of inflammation that are observed in laboratory studies include elevated CRP concentrations, faster erythrocyte sedimentation rates (ESRs), higher platelet counts (PLTs), leukocytosis, sideropenic anemia along with hypoalbumin, electrolytic disruptors, and (pANCA) [5, 6]. IL-6, a pro-inflammatory cytokine with multidirectional action, may also serve as a marker of the inflammatory process [7].



Previous research has demonstrated that ulcerative colitis is associated with elevated concentrations of IL-6, which is involved in initiating, intensifying, and maintaining the inflammatory process in the colon's inflamed mucous membrane [8–10]. Blood platelets are activated by cytokines and interactions between blood cells [1, 11].

The tiniest (diameter: 2.5–4.5 mm), discoid-shaped, non-nucleated blood cells are called platelets. They play a crucial role in tying together the processes of inflammation, hemostasis, and tissue healing. Blood platelets take role in the production of blood clots as well as the intricate processes that halt bleeding when damage to a blood vessel wall occurs. The release of various biologically active substances from their granules, such as platelet activation factor (PAF), (PDGF), (PF4), (b-TG), (IL-1), leukotriens, and (PNG), is how platelets start and sustain inflammatory processes [12–16].

sP-selectin is acknowledged as a common indicator of blood platelet activation and the response to cell granule release [17]. sP-selectin is also soluble in plasma. Selected P (sP)-selectin is the Sely Levis subdivision X-CD 15s and the sulfur-containing series tyrosine of P-selectin glycoprotein ligand-1 (PSGL-1), which is always present on the surface of phagocytes and neutrophils, are ligands for these two sP-selectin forms. The production of tissue factor is one of the proinflammatory, prothrombogenic, and monocyte responses that are triggered by the interaction of CD 62P and PSGL-1. P-selectin contributes to white blood cell migration during the inflammatory process, which causes the cells to adhere to endothelial cells in blood arteries and "roll" [1]. It has been observed that sP-selectin concentrations rise during inflammatory and malignant processes [16–19].

## ■ PURPOSE OF THE STUDY

To determine whether changes in ulcerative colitis patients were associated with an increase in blood platelets, alterations in blood platelet shape and activation are associated with elevated platelet counts.

## ■ MATERIALS AND METHODS

### **Subjects**

Thirty-five patients, ages 17 to 65, were the study's subjects; 16 of them were male and 19 were female. The individuals were admitted to the Al Zahraa teaching Hospital in Wasit province. Ulcerative colitis was identified in all of the individuals. Their clinical state was deemed critical and their condition was in aggravation at the time of blood collection for examination. Using Truelove and Witts' criteria for UC, the disease's activity was categorized as mild, moderate, or severe. Nine of the research group's participants had severe UC (hemoglobin attentiveness less than 10 g/dl; seven or more daily bowel activities with significant rectal bleeding), whereas the remaining ten participants had minor aggravation of the condition. Conversely, in the remaining 26 patients, there was minimal rectal bleeding, no fever or anemia, and a minor worsening of the illness.

The control group consisted of thirty well-being subjects – ten men and twenty women – who visited Al Zahraa teaching Hospital for the periodic physicals mandated by their managers under the current Labor Code. These patient didn't belong in a hospital.

### **Tools**

Every exam was administered concurrently to a control group and the study groups. Venous blood was drawn directly into BD Vacustainer vacuum test tubes, and the material

for analysis included clotting blood (to measure the concentrations of IL-6 and soluble P-selectin) and anticoagulant K2EDTA (to ascertain Platelets and their morphological parameters, in addition to MPC).

### **Procedures**

Using a Bayer Advia 123 hemogram analyzer, the quantity of blood PLT and their morphological properties (MPV and LPLT) in addition to MPC were ascertained. Using the R&D Systems ELISA Kit Human sP-selectin and ELISA Quantikine hs Human IL-6, the immunoassay approach was used to measure the amounts of sP-selectin and IL-6.

The quantitative sandwich immune assay technique, which ELISA (enzyme-linked immunosorbent test) uses, involves pre-coating a microplate with monoclonal antibodies specific for sP-selectin, which then binds sP-selectin found in blood samples. The immunology complex, a MNAC specific to soluble P-selectin conjugation, is formed after incubation with soluble P-selectin conjugate (second antibody to soluble P-selectin linked with horseradish peroxidase). A spectrophotometer is used to measure the color reaction's intensity after the substrate is added and the reaction is stopped with Stop Solution. The amount of sP-selectin in the plasma directly correlates with the color intensity. R&D Systems ELISA Quantikine hs Human IL-6 was used to quantitatively determine the concentration of human IL-6 in serum. The quantitative sandwich immunoassay technique serves as the foundation for this test. Pre-coated microplates containing MAS for IL-6 bind the IL-6 found in blood samples. A conjugating is added after any unbound antibodies have been cleaned. A "sand-wich structure" is formed during incubation, in which a layer of antigen is sandwiched between two antibodies. A color change results from the addition of a substrate (alkaline phosphate) to the enzyme attached to the anti-body. The wells are filled with an amplifier solution after they have been left to incubate. This allows the color to evolve according to the quantity of bound IL-6, in the initial step. Color change is then stationary and the strength of the color measured.

### **Statistical Analysis**

Statistica 9.0 PL was used to statistically assess the study's findings. Both the control group and the ulcerative colitis individuals had their arithmetic means and standard deviations computed. The parametric Student t-test was used for statistical comparison between the study of group (B) and the control group (C) for two independent determinants with a normal distribution. At  $p < 0.05$ , the results were deemed statistically significant. The activation of blood platelets and the inflammatory process were correlated, and this was found by a correlation test that used Pearson's coefficient and normal distribution determinants [20].

## **■ RESULTS**

The mean of platelet count in the control group (C) was  $245 \pm 44.74$  g/L; in contrast, the number of (PLT) in patients with ulcerative colitis (B) was  $301.57 \pm 111.95$  g/L, which was substantially highest ( $p < 0.01$ ) (Table 1). The study group B's mean platelet volume (MPV) was  $8.08 \pm 1.86$  fl, considerably lower ( $p < 0.05$ ) than the control group C's mean value ( $9.34 \pm 0.67$  fl). (Table 1). Table 1 displays the statistically insignificant number of large blood plate-lets (LPLT) in both groups, with  $5.75 \pm 3.25$  g/L in group B and  $6.34 \pm 1.81$  G/L in group C. When the MPC values in groups B and C were compared,



**Table 1**  
**Mean platelet count (MPC) and their morphological parameters in groups B and C**

	Subjects (B)	Control group (C)	p. value
	n=17	n=30	
	X±SD	X±SD	
Mean platelet count [g/L]	301.56±111.95	245±44.74	<0.01*
Mean platelet volume [fL]	8.08±1.86	9.34±0.67	<0.05*
Large blood platelets [g/L]	5.75±3.25	6.34±1.81	0.4
Mean platelet component concentration [g/dl]	27.47±1.48	26.70±1.37	0.8

Notes: n – No. of cases; X – mean; SD; Novice's t-test; \* p<0.05 – statistically significant differences.

**Table 2**  
**Concentrations of soluble P-selectin and Interleukin-6 in both groups (B and C)**

	Subjects (B)	Control group (C)	p. value
	N=15	N=24	
	X±SD	X±SD	
sP-selectin [ng/ml]	23.44±21.83	8.26±7.59	0.001*
IL-6 [pg/ml]	7.05±5.37	3.48±2.46	0.001*

Notes: n – No. of cases; X – mean; SD; t-test; \* p<0.05 – statistically significant differences.

it was found that patients with UC had an average MPC of 26.70±1.37 g/dl, which was marginally higher than the MPC values in the control group (27.47±1.38 g/dl). Table 1 shows that there was no statistically significant difference (0.7<p<0.8) between groups c and b. It was shown that, in comparison to the healthy participants, patients with ulcerative colitis had a considerably higher (p<0.01) concentration of sP-selectin. The average sP-selectin concentrations in group B were 23.44±21.83 ng/ml.) as showed in Table 2.

The mean concentration of IL-6 (7.05±5.37 pg/ml) in ulcerative colitis patients (B) was twice that of the control group (C), where the mean concentration was 3.48±2.46 pg/ml. According to Table 2, this difference is significant statistically (p<0.01). Although there was a positive correlation (r=0.34) between the sP-selectin and IL-6 concentrations, the relationship was not significant statistically (p<0.5).

## ■ DISCUSSION

Inflammatory bowel illness that is chronic and non-specific is known as ulcerative colitis (colitis ulcerosa). The etio pathogene-sis of UC is caused by a variety of reasons, including environmental, bacterial, viral, and genetic factors; dietary allergies; and genetic conditioning.

They damage the colon's mucosal barrier and cause problems with the intestinal immune system. IL-6 can increase up to 100-fold in blood plasma concentration during inflammation, suggesting that it is a sensitive yet non-specific marker of the inflammatory process in the human body. According to research by Wędry-chowicz et al., individuals

with active ulcerative colitis had higher blood plasma concentrations of IL-6, whereas patients who are experiencing remission have lower concentrations [21].

In biopsy samples of inflamed mucosa and (PBMNC) from individuals with non-specific inflammatory enteric disorders, Raddatz et al., investigated the expression of IL-6-mRNA [22]. It was shown that in individuals with pancolitis ulcerosa, elevated levels of CRP and IL-6 expression were correlated with the severity of the disease process in the colon's inflamed of mucous membrane. The results of our investigation showed that the participants with ulcerative colitis had an almost three-fold greater concentration of Interleukin-6 than the healthy group. This indicates that in patients with UC with inflamed mucosa, Interleukin-6 may be a useful measure of the inflammatory activity of the disease. Nonetheless, separating CD from UC may be made easier by the measurement of Interleukin-6 concentration in mucosal biopsies.

Numerous biological effects, including the stimulation of blood platelet activity, are induced by IL-6. P-selectin, a receptor protein that is surface-exposed during activation of blood platelets, has a role in the pathophysiology of thrombosis and inflammation [1]. The current investigation demonstrates that there was a significant statistically ( $p < 0.01$ ) increase in the concentration of sP-selectin in the UC participants related to the control group. These rises in sP-selectin concentrations demonstrate how blood platelets are activated and how they contribute to the inflammatory process.

A rise in IL-6 content in the colon's mucous membrane is indicative of an inflammatory condition. The stimulation of blood platelets and their involvement in the inflammatory process are indicated by a rise in the concentration of sP-selectin. Although not statistically significant, the current study's subjects with ulcerative colitis showed favorable associations between concentrations of Interleukin-6 and sP-selectin. Throughout the course of chronic inflammatory bowel illness, a rise in blood platelets has been noted [5, 6]. The morphological properties of platelets (MPV, LPLT) were also examined in the current study. These parameters may vary depending on how they operate, and measuring them may provide an indirect indication of the quantity of blood platelets activation [23, 24].

This research showed a statistically significant increase in PLT between the ulcerative colitis participants (B) and the control group (C). According to earlier research, patients with active colitis ulcerosa had higher blood platelet counts than either inactive colitis ulcerosa patients or healthy individuals. Here, there was a statistically significant difference between the research groups [25]. The quantity of metabolically active immature big blood platelets was determined in the current investigation. It was shown that, as compared to the control group, the number of participants with ulcerative colitis was somewhat lower, although this difference was not statistically significant.

These findings support the theory that smaller blood platelets contribute to a reduction in MPV while active big blood platelets are depleted throughout the inflammatory process. Additional research has also demonstrated that reticulated platelets were less common in people with active ulcerative colitis as compared to those with inactive colitis and healthy individuals [25]. It is important to keep in mind that participants with active ulcerative colitis may have lower MPV in response to higher blood platelet stimulation. According to the results of previous research [6, 26], MPV was considerably lower in the UC group (B) of the current investigation as compared to the control group (C).

Yüksel et al., study [6] sought to ascertain if mean PLT volume would be a helpful indicator of UC and to assess the measure's overall accuracy in assessing disease activity



relative to other inflammatory indicators (leukocytosis, ESR, and CRP concentration). In comparison to the control group, the study demonstrated that MPV was lower in the CU group and that this difference was statistically significant. The MPV levels of active UC ( $8.06 \pm 0.67$  fl) Colitis ulcerosa ( $8.34 \pm 0.86$  fl) and inactive colitis (1.18 fl) were contrasted. It was demonstrated that the differences were statistically significant. Leukocytosis, ESR, and CRP were not correlated with MPV in UC.

Based on the findings, it seems that in colitis ulcerosa patients, lower MPV might be a sign of higher disease activity. In the study by Kayahan et al. [25], parallel dependencies between mean platelet volume and ulcerative colitis activity were noted. 38 healthy individuals, 66 patients with (CD), and 93 patients with (CU) were the subjects of a 2001 study by Kapsoritakis et al. on inflammatory bowel disease [26]. For colitis ulcerosa patients, the Clinical Colitis Activity Index was used to define the illness's activity, and for Crohn's disease patients, the Crohn's illness Activity Index. Blood platelet counts and their morphological characteristics were assessed in each group.

## ■ CONCLUSIONS

Patients with ulcerative colitis have elevated blood platelet counts as well as altered activation and morphological properties due to a chronic inflammatory process. The decreased LPLT value in the subjects would suggest that the colon's inflammatory process involves big, metabolically active blood platelets. Because a reduction in MPV indicates that blood platelets are active and participating in the mucosal inflammatory process, MPV can be a valuable indicator of active UC. A high level of soluble P-selectin indicates its involvement in the inflammatory process and is a marker of blood platelet activation. Because of the positive correlation between the rise in IL-6 concentration and the rise in soluble P-selectin concentration may be a useful indicator of active UC.

## ■ REFERENCES

1. Irving PM, Macey MG, Feakins RM, Knowles CH, Rampton DS. Platelet-leucocyte aggregates form in the mesenteric vasculature in patients with ulcerative colitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2008;20(4):283–289.
2. Kamikozuru K, Fukunaga K, Hirota S, et al. The expression profile of functional regulatory T cells, CD4+ CD25high+/forkhead box protein-P3+ in patients with ulcerative colitis during active and quiescent disease. *Clin Exp Immunol.* 2009;156(2):320–327.
3. Gutkowski K, Gutkowska D. Rola mechanizmów immunologicznych w patogenezie nieswoistych zapalnych chorób jelit. *Gastroenterol Pol.* 2006;13(3):197–201.
4. Polińska B, Matowicka-Karna J, Kemona H. Cytokiny w nieswoistych zapalnych chorobach jelit the cytokines in inflammatory bowel disease. *Postep Hig Med Dosw.* 2009;389–94.
5. Cakal B, Akoz AG, Ustundag Y, et al. Red cell distribution width for assessment of activity of inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci.* 2009;54(4):842–847.
6. Yüksel O, Helvacı K, Başar O, et al. An overlooked indicator of disease activity in ulcerative colitis: mean platelet volume. *Platelets.* 2009;20(4):277–281.
7. Larsen TB, Nielsen JN, Fredholm L, et al. Platelets and anti-coagulant capacity in patients with inflammatory bowel disease. *Pathophysiol Haemost Thromb.* 2002;32(2):92–96.
8. Grivennikov S, Mucida D, Terzic J, et al. The role of IL-6 and IL-23 in colitis associated cancer. *J Immunol.* 2009;182(1\_Supplement):30.3.
9. Kwon KH, Murakami A, Hayashi R, Ohigashi H. Interleukin-1beta targets interleukin-6 progressing dextran sulfate sodium-induced experimental colitis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;337(2):645–654.
10. Naito Y, Takagi T, Uchiyama K, et al. Reduced intestinal inflammation induced by dextran sodium sulfate in interleukin-6-deficient mice. *Int J Mol Med.* 2004;14(2):191–196.
11. Pamuk GE, Vural O, Turgut B, et al. Increased circulating platelet-neutrophil, platelet-monocyte complexes, and platelet activation in patients with ulcerative colitis: a comparative study. *Am J Hematol.* 2006;81(10):753–759.
12. Grove EL, Hvas AM, Kristensen SD. Immature platelets in patients with acute coronary syndromes. *Thromb Haemost.* 2009;101(1):151–156.
13. Kralisz M, Matowicka-Karna J. Evaluation of morphological parameters of blood platelets in the course of giardiasis. *Polski merkuriusz lekarski: Organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego.* 2008 Dec 1;25(150):480–3.
14. Matowicka-Karna J, Kemona H. Aktywność fagocytarna płytek krwi w przebiegu różnych chorób pasożytniczych. *Przegl Lek.* 2002;59(10):820–822.

Assessment of Features of Biochemical Factors Associated with the Inflammatory Process and Their Impact on the Count and Morphological Structure of Blood Platelets in Individuals with Intestinal Damages Due to Ulcerative Colitis

---

15. Ranjith MP, Divya R, Mehta VK, et al. Significance of platelet volume indices and platelet count in ischaemic heart disease. *J Clin Pathol.* 2009;62(9):830–833.
16. Polińska B, Matowicka-Karna J, Kemona H. Assessment of the influence of the inflammatory process on the activation of blood platelets and morphological parameters in patients with ulcerative colitis (colitis ulcerosa). *Folia histochemica et cytobiologica.* 2011;49(1):119–24.
17. Ay C, Jungbauer LV, Sailer T, et al. High concentrations of soluble P-selectin are associated with risk of venous thromboembolism and the P-selectin Thr715 variant. *Clin Chem.* 2007;53(7):1235–1243.
18. Fägerstam JP, Whiss PA. Higher platelet P-selectin in male patients with inflammatory bowel disease compared to healthy males. *World J Gastroenterol.* 2006;12(8):1270–1272.
19. Mantur M, Kemona H, Kozłowski R, Kemona-Chetnik I. Effect of tumor stage and nephrectomy on CD62P expression and sP-selectin concentration in renal cancer. *Neoplasma.* 2003 Jan 1;50(4):262–5.
20. Zubairi RB, Hasan SA, Okab HF. Effect of IL-17 and IL-23 Levels in Women with Polycystic Ovary Syndrome. *J Pharm Negat Results.* 2025;15(1): 43–50.
21. Wedrychowicz A, Stopyrowa J, Fyderek K, Miezyński W. Serum and stool interleukin 6 in active and inactive ulcerative colitis in children. *Pediatr Wspolcz.* 2000;3:165–9.
22. Raddatz D, Bockemühl M, Ramadori G. Quantitative measurement of cytokine mRNA in inflammatory bowel disease: relation to clinical and endoscopic activity and outcome. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2005;17(5):547–557.
23. Bancroft AJ, Abel EW, McLaren M, Belch JJ. Mean platelet volume is a useful parameter: a reproducible routine method using a modified Coulter thrombocytometer. *Platelets.* 2000;11(7):379–387.
24. Lippi G, Filippozzi L, Salvagno GL, et al. Increased mean platelet volume in patients with acute coronary syndromes. *Arch Pathol Lab Med.* 2009;133(9):1441–1443.
25. Kayahan H, Akarsu M, Ozcan MA, et al. Reticulated platelet levels in patients with ulcerative colitis. *Int J Colorectal Dis.* 2007;22(12):1429–1435.
26. Kapsoritakis AN, Koukourakis MI, Sfiridaki A, et al. Mean platelet volume: a useful marker of inflammatory bowel disease activity. *Am J Gastroenterol.* 2001;96(3):776–781.



<https://doi.org/10.34883/PI.2026.15.2.014>  
УДК 557.1:[591.2+616.1/9]



Балаева-Тихомирова О.М.✉, Данченко Е.О., Пинчук П.Ю., Чиркин А.А.  
Витебский государственный университет имени П.М. Машерова, Витебск, Беларусь

## Биохимические синдромы при устойчивых нарушениях основных видов обмена веществ и экстремальных проявлениях отдельных форм соматической патологии: методологические аспекты их моделирования (обзор литературы)

**Конфликт интересов:** не заявлен.

**Вклад авторов:** концепция и дизайн исследования, редактирование – Чиркин А.А., Данченко Е.О.; концепция и дизайн исследования, подбор материала, обработка, написание текста – Балаева-Тихомирова О.М., Пинчук П.Ю.

Подана: 20.08.2025

Принята: 03.03.2026

Контакты: olgabal.tih@gmail.com

### Резюме

Патогенез заболеваний, как и особенности их клинического проявления, во многом характеризуются определенными биохимическими синдромами с возможным развитием модификаций лабораторных показателей по мере усугубления тяжести течения патологических процессов.

К настоящему времени известны экспериментальные подходы к исследованию распространенных заболеваний, базирующихся на использовании модельных организмов с учетом этических правил работы с лабораторными животными, прежде всего млекопитающими, и другими, менее высокоорганизованными организмами. На основе анализа данных литературы и результатов собственных многолетних исследований выделены и описаны типичные биохимические синдромы, характерные для заболеваний, а также показано развитие биохимических изменений по пути к формированию экстремальных форм патологий, в том числе при моделировании этих состояний у различных животных.

Впервые проведен комплексный анализ гомологии и сходства более 200 ферментов в ряду: беспозвоночные, млекопитающие, человек – как способ отбора модельных организмов для доклинических исследований.

Показано, что патогенез многих заболеваний включает в себя специфические биохимические синдромы, по развитию которых можно либо судить о благоприятном течении заболеваний, либо прогнозировать их переход в группу экстремальных форм патологии. Высказано представление о том, что на основе оценки гомологии и сходства ключевых ферментов углеводного, липидного, белкового и других видов обмена веществ может строиться отбор модельных организмов и их структурных компонентов (каковыми являются органы, ткани, клетки, жидкости внутренней среды организма) для изучения биохимических основ заболеваний и перехода их в угрожающие здоровью и жизни экстремальные патологии.

**Ключевые слова:** биохимические синдромы, экстремальные формы патологии, биохимические тесты, биохимическая характеристика здорового организма и форм патологии, моделирование патологических процессов, сравнительная энзимология

---

Balaeva-Tikhomirova O.✉, Danchenko E., Pinchuk P., Chirkin A.  
Vitebsk State University named after P.M. Masherov, Vitebsk, Belarus

## Biochemical Syndromes in Stable Disorders of the Main Types of Metabolism and Extreme Manifestations of Certain Forms of Somatic Pathology: Methodological Aspects of their Modeling (a Literature Review)

**Conflict of interest:** nothing to declare.

**Authors' contribution:** study concept and design, editing – Chirkin A., Danchenko E.; study concept and design, material selection, processing, text writing – Balaeva-Tikhomirova O., Pinchuk P.

Submitted: 20.08.2025

Accepted: 03.03.2026

Contacts: olgabal.tih@gmail.com

### Abstract

---

The pathogenesis of diseases, as well as features of their clinical manifestations, are largely characterized by specific biochemical syndromes with potential modifications in laboratory parameters as the severity of pathological processes worsens.

To date, experimental approaches to investigating common diseases are known, based on the use of model organisms in accordance with ethical guidelines for working with laboratory animals, primarily mammals, and other, less highly organized organisms. Based on an analysis of the literature and the results of own long-term investigations, typical biochemical syndromes characteristic to diseases are identified and described; the progression of biochemical changes leading to extreme forms of pathology is also demonstrated, including through the modeling of these conditions in various animals. For the first time, a comprehensive analysis of homology and similarity among more than 200 enzymes in a series of invertebrates, mammals, and humans was conducted as a way for selecting model organisms for preclinical studies.

It was shown that the pathogenesis of many diseases involved specific biochemical syndromes, the progression of which can either indicate a favorable course of the disease or predict its transition to extreme forms of pathology.

It was suggested that, basing on an evaluation of homology and similarity of key enzymes involved in carbohydrate, lipid, protein, and other metabolic pathways, a selection of model organisms and their structural components (such as organs, tissues, cells, and body fluids) could be carried out to explore biochemical grounds of diseases and their progression into life-threatening extreme pathologies.

**Keywords:** biochemical syndromes, extreme forms of pathology, biochemical tests, biochemical characteristics of healthy organism and pathological forms, modeling of pathological processes, comparative enzymology



## ■ ВВЕДЕНИЕ

Биохимические синдромы, включающие устойчивые изменения показателей обмена веществ, лежат в основе диагностики распространенных заболеваний. На протяжении 30 лет авторы статьи участвовали в установлении и обобщении результатов биохимических исследований у практически здоровых и страдающих отдельными формами патологии представителей населения Республики Беларусь, в том числе ликвидаторов аварии на Чернобыльской АЭС (ЧАЭС), воинов-интернационалистов, спортсменов пубертатного возраста, о чем свидетельствует ряд публикаций, включающий справочники, учебные пособия, учебники [1].

По результатам интерпретации клинико-лабораторных исследований была опубликована информация о референтных значениях показателей лабораторных тестов, установленных при обследовании 21 754 жителей северо-восточной области Республики Беларусь. Выбор данного региона был определен тем, что он является типичным по составу почвы, воды, воздуха, флоры и фауны для Республики Беларусь, но оказался наименее пострадавшим от аварии на ЧАЭС [2]. В справочнике «Клинический анализ лабораторных данных» приведены диагностические алгоритмы, предназначенные для оказания помощи врачам при различных клинических ситуациях [3]. На основе результатов этих многолетних клинико-биохимических исследований были отобраны 10 вариантов устойчивых характеристик нарушений обмена веществ, связанных с развитием соматических заболеваний, сведения о которых представлены в данной статье.

Поиск научной литературы выполнен в электронных библиографических базах данных на русском (eLibrary, CyberLeninka) и английском (Web of Science, Scopus, PubMed) языках. Критериями включения информации в статью было наличие данных о результатах рандомизированных контролируемых исследований, в том числе данных доклинических исследований. В результате поиска были выявлены ключевые тренды в исследованиях (2018–2024 гг.) – основные лабораторные критерии, характеризующие устойчивые нарушения отдельных видов обмена веществ. Обращено внимание на комплексность действия стрессоров (диета + токсин, тяжелые металлы + гипоксия и др.). Мультиомиксные подходы были ориентированы на широкое внедрение методов транскриптомики, протеомики, метаболомики и др. в моделировании отдельных форм патологии человека у животных. Судя по данным литературы [3], в последние годы наметился существенный прогресс в моделировании и понимании процессов нарушения обмена веществ на разных уровнях биологической организации – от молекулярных механизмов до целостного организма в его среде обитания. На основе собственных исследований [4, 5] нами выделено 10 типов нарушений обмена веществ.

## ■ КЛЮЧЕВЫЕ ТИПЫ НАРУШЕНИЙ МЕТАБОЛИЗМА, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ НАИБОЛЕЕ РАСПРОСТРАНЕННЫХ ТИПОВ СОМАТИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ

1. Нарушения углеводного обмена. Сахарный диабет 2-го типа (СД 2-го типа) – наиболее распространенный, характеризуется гипергликемией, инсулинорезистентностью и относительной недостаточностью инсулина.

СД 1-го типа возникает при абсолютном дефиците инсулина (чаще начинается в молодом возрасте, но встречается и у взрослых).

Преддиабет (нарушенная гликемия натощак, нарушенная толерантность к глюкозе) – пограничное состояние с высоким риском развития СД 2-го типа.

Гипогликемия может быть связана с диабетом, инсулиномой, печеночной недостаточностью и др. [6–9].

2. Нарушения липидного (жирового) обмена (дислипидемии). К основным типам дислипидемии относят: гиперхолестеринемию (повышение содержания общего холестерина в крови); гипертриглицеридемию (повышение уровня триглицеридов); дислипидотеинемиию (повышение уровня холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП) и снижение концентрации холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП)). Комбинированные дислипидемии устанавливаются при сочетании нескольких перечисленных нарушений. Основная опасность таких нарушений обмена веществ связана с развитием атеросклероза, ишемической болезни сердца, инсульта [10–12].
3. Нарушения белкового обмена. Наблюдается при отрицательном азотистом балансе: регистрируется в ситуациях, когда распад белков превышает их синтез (при тяжелых заболеваниях, ожогах, травмах, голодании). К этому типу нарушения белкового обмена относят врожденные (фенилкетонурия) и приобретенные (например, при развитии печеночной недостаточности и повышении уровня аммиака) патологические состояния [1, 3].
4. Нарушения обмена нуклеиновых кислот (пуринов). Встречается при подагре – повышении уровня мочевой кислоты в крови (гиперурикемия) с отложением кристаллов уратов в суставах и других тканях [7, 13].
5. Нарушения минерального обмена. Нарушение обмена кальция и фосфора проявляется остеопорозом (снижение минеральной плотности кости) и остеомалацией (размягчение костей у взрослых). Характеризуются гиперкальциемией (повышение уровня кальция в крови, например при гиперпаратиреозе, метастазах в кости) и гипокальциемией (снижение кальция в крови при гипопаратиреозе, дефиците витамина D) [1, 3].
6. Нарушения обмена натрия, калия, хлора (электролитные нарушения). К ним относятся гипернатриемия/гипонатриемия и гиперкалиемия/гипокалиемия. Эти состояния возникают при заболеваниях почек, сердечной недостаточности, приеме диуретиков, обезвоживании [1, 3].
7. Нарушения обмена железа: железodefицитная анемия (самая распространенная форма патологии) и гемохроматоз (избыточное накопление железа) [1, 3].
8. Метаболический синдром (МС) – комплекс взаимосвязанных метаболических расстройств, повышающих риск сердечно-сосудистых заболеваний и СД 2-го типа. Ключевыми компонентами этого состояния являются абдоминальное ожирение (увеличение окружности талии), артериальная гипертензия, повышение уровня триглицеридов, снижение уровня ХС ЛПВП, гипергликемия (повышенный уровень глюкозы крови натощак или нарушение толерантности к глюкозе). Наличие 3 из 5 перечисленных критериев позволяет диагностировать МС [1, 6, 10].
9. Ожирение – хроническое заболевание, характеризующееся избыточным накоплением жировой ткани в организме. Является основным фактором риска для многих других метаболических нарушений (СД 2-го типа, дислипидемии) и сердечно-сосудистых заболеваний [10, 13].



10. Нарушения обмена витаминов. Гиповитаминозы (недостаточность витаминов) связаны с нарушениями состава пищи. Гипервитаминозы возникают чаще при избыточном поступлении витаминов, в частности жирорастворимых, например А и D [1, 3].

Описанные нарушения часто взаимосвязаны (например, ожирение, СД 2-го типа, дислипидемия и гипертензия составляют основу МС) и требуют комплексного подхода к диагностике и лечению. Диагноз ставится врачами на основании клинической картины и лабораторных исследований.

Таким образом, на основании выполненных исследований нами были выделены 10 ключевых патологических состояний, каждое из которых имеет свой характерный биохимический профиль, или биохимический синдром (как совокупность биохимических тестов оценки патологии) [1, 3].

## ■ БИОХИМИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ ОТДЕЛЬНЫХ ФОРМ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

1. Атеросклероз и дислипидемии, обуславливающие кардиометаболический риск. Ключевыми показателями этих синдромов являются: общий холестерин (ОХС), ХС ЛПНП, ХС ЛПВП, триглицериды (ТГ), аполипопротеин В (АpoВ), липопротеин (а) – Lp(a). Типичные изменения, свойственные этому синдрому: повышение содержания ОХС, ХС ЛПНП, ТГ и снижение уровня ХС ЛПВП. АpoВ – интегральный показатель атерогенных частиц. Lp(a) рассматривается как независимый фактор риска. С-реактивный белок (СРБ) является маркером воспаления и повреждения тканей, в том числе связанного с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек.
2. Метаболический синдром. Ключевые показатели: глюкоза крови натощак или гликированный гемоглобин HbA1c, представляющий собой комплекс глюкозы и гемоглобина в эритроцитах. Этот показатель позволяет оценить средний уровень глюкозы в крови за последние 2–3 месяца, что применяется для диагностики сахарного диабета и контроля его лечения. Кроме того, для диагностики этого синдрома имеет значение определение уровня ТГ, ХС ЛПВП, измерение окружности талии и артериального давления (не биохимические показатели, но обязательные критерии). Типичные изменения, характеризующие метаболический синдром: повышение уровня глюкозы (или HbA1c) и ТГ при снижении концентрации ХС ЛПВП. Диагноз ставится при наличии 3 из 5 критериев (включая ожирение и артериальное давление).
3. Сахарный диабет 2-го типа (и преддиабет). Ключевые показатели лабораторных тестов: уровень глюкозы натощак, содержание глюкозы через 2 часа после ПГТТ (перорального глюкозотолерантного теста), концентрация гликированного гемоглобина (HbA1c), инсулина (для оценки резистентности), С-пептида. Типичные изменения: концентрация глюкозы крови натощак  $>7,0$  ммоль/л, через 2 ч ПГТТ концентрация глюкозы  $>11,1$  ммоль/л, содержание HbA1c  $>6,5\%$ . При преддиабете фиксируются значения ниже, но выше нормы. Часто сочетается с дислипидемией МС.
4. Печеночный цитолиз (повреждение гепатоцитов). Ключевые показатели лабораторных тестов: уровень активности АЛТ (аланинаминотрансферазы) и АСТ (аспартатаминотрансферазы). Типичные изменения: повышение активности АЛТ и АСТ.

Соотношение АСТ/АЛТ  $<1$  характерно для вирусных гепатитов, а для алкогольного поражения печени часто  $>2$ . Может повышаться активность ЛДГ (лактатдегидрогеназа) и ГлДГ (глутаматдегидрогеназа).

5. Холестаз (нарушение образования/оттока желчи). Характерные показатели: возрастание активности щелочной фосфатазы (ЩФ), гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ), прямого (конъюгированного) билирубина, желчных кислот. Типичные изменения: повышение активности ЩФ, ГГТ и содержания прямого билирубина.
6. Печеночно-клеточная недостаточность (синтетическая дисфункция). Ключевые показатели: тесты определения альбумина, общего белка, активности холинэстеразы (ХЭ), билирубина общего, а также протромбинового времени (ПТВ) и МНО (международное нормализованное отношение). Последние 2 лабораторных показателя используются для оценки свертываемости крови. ПТВ определяет время, необходимое для образования сгустка крови после добавления в образец плазмы тромбoplastина и кальция. МНО является стандартизированным способом представления результатов ПТВ, используемым для контроля терапии антикоагулянтами (варфарин). Типичные изменения при печеночно-клеточной недостаточности: снижение уровня альбумина, общего белка при повышении ПТВ и МНО. Фиксируется низкая коррекция витамином К, снижение активности холинэстеразы и повышение уровня билирубина (прямая + непрямая фракции).
7. Хроническая болезнь почек (ХБП) / уремия. Ключевые показатели: уровень креатинина сыворотки, мочевины (азот мочевины), скорость клубочковой фильтрации (СКФ, расчетный показатель), калий ( $K^+$ ), фосфаты ( $PO_4^{3-}$ ), кальций ( $Ca^{2+}$ ), паратгормон (ПТГ), общий белок / альбумин (при нефротическом синдроме). Типичными изменениями являются повышение уровней креатинина и мочевины на фоне снижения СКФ, повышение содержания  $K^+$  и фосфатов при снижении  $Ca^{2+}$ . Отмечается массивная протеинурия (выше 50 мг/кг/сут или выше 3,5 г/сут), гипопропротеинемия и гипоальбуминемия (менее 20 г/л), гиперлипидемия (уровень холестерина выше 6,5 ммоль/л).
8. Гипотиреоз. Ключевые лабораторные тесты: уровень ТТГ (тиреотропный гормон), свободного  $T_4$  (тироксин), свободного  $T_3$  (трийодтиронин), креатинкиназы (КК), липидов (ОХС и ХС ЛПНП). Типичные изменения: повышение содержания ТТГ и снижение свободного  $T_4$ ; часто повышена активность креатинкиназы (из-за сниженного метаболизма в мышцах), а также содержание ОХС и ХС ЛПНП.
9. Гиперкортицизм (синдром Кушинга). Ключевые лабораторные тесты: определение уровня кортизола (суточный ритм, дексаметазоновые тесты), АКТГ, глюкозы (натощак и постпрандиальная). Типичные изменения: нарушение суточного ритма кортизола, повышение содержания кортизола в моче, отсутствие подавления его дексаметазоном. Констатируется повышение уровня глюкозы и снижение концентрации  $K^+$  (гипокалиемический алкалоз).
10. Диабетический кетоацидоз (ДКА). Ключевые лабораторные тесты: определение уровня глюкозы крови, кетоновых тел в крови и моче (бета-гидроксибутират), pH крови, гидрокарбонат-ионов ( $HCO_3^-$ ), анионной разницы калия ( $K^+$ ) и натрия ( $Na^+$ ). Типичные изменения: концентрация глюкозы  $>13,9$  ммоль/л, повышение концентрации кетонов при снижении pH ( $<7,3$ ) и  $HCO_3^-$  ( $<18$  ммоль/л) на фоне возрастания анионной разницы. Часто повышена концентрация  $K^+$  в сыворотке (плазме)



крови (несмотря на общий его дефицит) и снижена концентрация  $\text{Na}^+$  (осмотический эффект глюкозы).

Для биохимической диагностики заболевания характерны: отсутствие абсолютно специфичных показателей, что требует комплексной оценки клинико-лабораторных данных. Необходимо учитывать «пересечение» метаболических профилей при различных формах патологии; диагностическую значимость наблюдения за показателями в динамике и их последующее сопоставление с клинической картиной, а не разовые измерения. Выделенные 10 биохимических синдромов, охватывающих ключевые патологические изменения метаболизма, характерны для широкого спектра заболеваний, включая тяжелые и экстремальные формы [14–19].

## ■ ЭВОЛЮЦИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ СИНДРОМОВ

Динамика развития нарушений обмена веществ является ключевой при анализе развития, прогрессирования, взаимосвязи и клинических проявлений. В публикациях [1–3] рассмотрена типичная эволюция 10 биохимических синдромов, которые при развитии биохимических изменений ведут к экстремальным патологиям [1, 3].

1. Метаболический синдром – «стартовая площадка» для многих нарушений обмена веществ, а также для развития экстремальных и обычных форм патологии.

Началом развития является проявление инсулинорезистентности (ИР) как ключевого пускового механизма последующих нарушений. Клетки перестают адекватно реагировать на инсулин.

Ранняя динамика сводится к компенсаторной гиперинсулинемии (повышению уровня инсулина и С-пептида), нарушению липидного обмена (повышенное содержание ТГ на фоне снижения концентрации ХС ЛПВП; увеличение уровня ХС ЛПНП). Активация симпатической нервной системы приводит к повышению артериального давления. Затем следует абдоминальное ожирение (накопление висцерального жира), усиливаются ИР и воспаление (повышен уровень СРБ).

Прогрессирование: постоянная гиперинсулинемия истощает  $\beta$ -клетки поджелудочной железы, что ведет к гипергликемии натощак с последующим нарушением толерантности к глюкозе (НТГ). В итоге это способствует развитию СД 2-го типа. Исход – прямой путь к атеросклерозу и СД 2-го типа.

2. Сахарный диабет 2-го типа. При его развитии происходит эскалация углеводных и липидных нарушений. Началом формирования является становление метаболического синдрома. ИР + прогрессирующая дисфункция  $\beta$ -клеток ведут к существенному повышению уровня глюкозы натощак и постпрандиально, т. е. после еды (следствие – повышение  $\text{HbA1c}$ ).

Липидные нарушения: повышение уровня ТГ, снижение ХС ЛПВП и появление мелких плотных ЛПНП (дислипидемия атерогенного типа).

Поздние осложнения могут быть 2 типов. Во-первых, микрососудистые: гипергликемия → гликирование белков, оксидативный стресс → повреждение эндотелия → диабетическая нефропатия (альбуминурия, повышение уровня креатинина и уменьшение СКФ), ретинопатия, нейропатия. Во-вторых, макрососудистые: ускорение развития атеросклероза → ИБС, инсульт, развитие хронической почечной недостаточности. Острое осложнение: при декомпенсации, стрессе, инфекции → риск диабетического кетоацидоза (ДКА) или гиперосмолярного состояния.

3. Атеросклероз и дислипидемии. Начало развития синдрома сопровождается дислипидемией (повышением уровня ХС ЛПНП, ТГ, ApoB, Lp(a) и снижением ХС ЛПВП) + эндотелиальной дисфункцией (часто на фоне ИР, МС, курения, гипертонии).

Ранняя динамика: проникновение и модификация ХС ЛПНП в сосудах → захват макрофагами → образование пенистых клеток → формирование жировых полосок (начальное поражение); повышение уровня СРБ (воспаление).

Прогрессирование: рост фиброзной бляшки.

Нестабильность бляшки (воспаление, истончение покрывки) → риск разрыва.

Клинические проявления: стабильная стенокардия и ХИМ (хроническая ишемическая болезнь сердца). Дальнейшее развитие → острый коронарный синдром (при разрыве бляшки и тромбозе), инсульт, ишемия конечностей. Факторы ускорения: МС, СД 2-го типа (гипергликемия повреждает эндотелий), гипертония (механическое повреждение), курение, ХБП (хроническая болезнь почек).

4. Печеночный цитолиз – острое или хроническое повреждение печени.

Начало: воздействие повреждающего фактора (вирус, алкоголь, токсины, жир при неалкогольной жировой болезни печени – НАЖБП (неалкогольная жировая болезнь печени), лекарства, ишемия).

Острая фаза: быстрое высвобождение ферментов из поврежденных гепатоцитов, ведущее к резкому повышению активности АЛТ>АСТ (при вирусных гепатитах, токسينах) или повышению активности АСТ>АЛТ (при алкогольном поражении) и активности ЛДГ.

Хроническая фаза: умеренно повышено отношение АЛТ/АСТ. Развивается хроническое воспаление печени (гепатит, НАСГ). Прогрессирование ведет к фиброзу (оценивается эластографией или биопсией) и печеночно-клеточной недостаточности. При тяжелом повреждении печени отмечаются: массивный некроз → острая печеночная недостаточность (высокие значения билирубина и МНО, снижение концентрации альбумина).

5. Холестаз – нарушение оттока желчи.

Начало: обструкция протоков (камень, стриктура пищевода, опухоль) или внутрипеченочное нарушение секреции (влияние лекарств, аутоиммунные заболевания ПБЦ – первичный билиарный цирроз, ПСХ – первичный склерозирующий холангит, гепатит).

Ранняя динамика: характеризуется повышением активности ЩФ (особенно его печеночного изофермента) и ГГТ – наиболее чувствительные маркеры. Накопление компонентов желчи в гепатоцитах → вторичное повреждение клеток (может увеличиваться отношение АЛТ/АСТ).

Прогрессирование: повышение уровня прямого билирубина и развитие желтухи.

Накопление желчных кислот вызывает кожный зуд. Холестаз сказывается на нарушении всасывания жиров и жирорастворимых витаминов (А, D, E, K).

Долгосрочные последствия дефицита витамина К ведут к повышению величин МНО (несмотря на сохранную синтетическую функцию печени). Дефицит витамина D запускает процессы остеопороза/остеомалации. Билиарный цирроз при длительном течении ведет к печеночно-клеточной недостаточности.

6. Печеночно-клеточная недостаточность – финальная стадия хронического поражения печени. Динамика: прогрессирующая потеря функционирующих гепатоцитов (цирроз, гепатит). Биохимические маркеры: снижение уровня альбумина



(длительный процесс, полураспад ~20 суток). Повышение величин ПТВ и МНО (нарушение синтеза факторов свертывания) – быстро реагирующие маркеры. Отмечается повышение содержания общего билирубина. Уровень гликемии понижен (нарушение гликогенеза/глюконеогенеза). Увеличена концентрация амиака (нарушение цикла мочевины), что ведет к печеночной энцефалопатии. В результате развивается терминальная печеночная недостаточность, портальная гипертензия, гепаторенальный синдром.

#### 7. Хроническая болезнь почек (ХБП).

Начало: повреждение почек (сахарный диабет, артериальная гипертензия, гломерулонефриты и др.) ведет к снижению СКФ. Ранние стадии (1–3): компенсация, повышены креатинин и мочевины. Возможна микроальбуминурия/протеинурия.

Прогрессирование (стадии 4–5): накопление азотистых шлаков с существенным повышением содержания креатинина и мочевины. Электролитные нарушения связаны с умеренным повышением уровня калия (гиперкалиемия), фосфатов (гиперфосфатемия) и снижением кальция (гипокальциемия). Минерально-костные нарушения: повышение содержания ПТГ (вторичный гиперпаратиреоз) ведет к почечной остеодистрофии. Развивается анемия из-за снижения эритропоэтина, что ведет к падению уровня гемоглобина. Отмечается нарушение кислотно-основного состояния: возникает метаболический ацидоз из-за снижения уровня бикарбонатов. Постепенно нарастает дислипидемия за счет повышения уровней ТГ, ХС (особенно при нефротическом синдроме). В результате развивается терминальная ХБП (уремия).

#### 8. Гипотиреоз – медленное снижение метаболизма. Началом его формирования являются аутоиммунный тиреоидит (Хашимото), последствия лечения гипертиреоза, дефицит йода.

Субклиническая стадия: повышение ТТГ при нормальных величинах отношения свободных  $T_4/T_3$ .

Манифестная стадия: значительное повышение концентрации ТТГ, уменьшение свободного  $T_4$  (и часто свободного  $T_3$ ). Замедление всех метаболических процессов и повышение активности креатинкиназы. Параллельно увеличиваются концентрации ХС и ХС ЛПНП за счет снижения интенсивности катаболизма липидов. Возможна гипонатриемия по причине повышения АДГ и нормохромная нормоцитарная анемия. Динамика: развивается медленно (месяцы, годы). Требуется заместительной терапии L-тироксинном.

#### 9. Гиперкортицизм (синдром Кушинга) – состояние, связанное с избытком кортизола в организме.

Начало формирования синдрома: аденома гипофиза (болезнь Кушинга), эктопическая продукция АКТГ, опухоль надпочечника, ятрогенный механизм (прием глюкокортикостероидов).

Динамика нарушений со стороны углеводного обмена: контринсулярное действие кортизола, приводящее к гипергликемии с развитием стероидного диабета (повышены величины концентрации глюкозы и HbA1c). Усиливается катаболизм белков, который ведет к мышечной слабости, истончению кожи и возникновению растяжек. Повышено содержание мочевины. Со стороны липидного обмена – перераспределение жира (кушингоидное ожирение). Умеренное повышение содержания ТГ и холестерина. Минералокортикоидный эффект – задержка  $Na^+$  и воды, что ведет к артериальной гипертензии. Усиление экскреции  $K^+$  проявляется в виде

гипокалиемии. Нарастает метаболический алкалоз. Костный обмен характеризуется повышенной резорбцией костной ткани – остеопорозом, что ведет к повышению риска переломов. Выражено подавление иммунитета – лейкоцитоз (нейтрофилез), лимфопения, эозинопения. Диагностика: нарушение суточного ритма кортизола, отсутствие эффекта подавления различными дозами дексаметазона.

10. Диабетический кетоацидоз (ДКА) – острая «метаболическая катастрофа». Пусковым фактором является дефицит инсулина (часто при СД 1-го типа, реже при СД 2-го типа на фоне тяжелого стресса / инфекции) + повышение содержания контринсулярных гормонов (глюкагон, кортизол, катехоламины). Каскад нарушений: гипергликемия (концентрация глюкозы  $>13,9$  ммоль/л) формирует осмотический диурез, который ведет к обезвоживанию (повышены гематокрит и гемоглобин); вначале повышено содержание натрия, которое сменяется его уменьшением. Липолиз ведет к повышению содержания свободных жирных кислот и кетогенезу в печени. В результате в крови увеличивается содержание кетоновых тел (ацетоацетат,  $\beta$ -гидроксibuтират, ацетон), что проявляется в виде кетонемии и кетонурии. Накопление кетокислот вызывает метаболический ацидоз (рН крови  $<7,3$ , бикарбонат  $<18$  ммоль/л, повышается анионная разница). Ацидоз + осмотический диурез ведут к повышению калиемии ( $K^+$  выходит из клеток) несмотря на общий дефицит  $K^+$  в организме. Потери  $K^+$  с мочой создают гипокалиемию после начала инсулинотерапии.

Динамика развития метаболических и биохимических синдромов обладает рядом характеристик, важных для понимания их патогенеза и построения стратегий вмешательства. Синдромы, как правило, не существуют изолированно: МС занимает центральное место, способствуя формированию СД 2-го типа и атеросклероза, а печеночная и почечная недостаточность усугубляют нарушения, затрагивающие другие системы. Развитие этой формы патологии часто начинается с субклинических изменений, таких как ИР, умеренное повышение содержания ХС ЛПНП, ТТГ, активности АЛТ и др. Эти сдвиги могут оставаться незамеченными, но со временем переходят в выраженные клинические состояния с множественными отклонениями биохимических показателей с хроническим или острым течением нарушений. Понимание этих процессов имеет принципиальное значение для ранней диагностики, профилактики и своевременного лечения метаболических и биохимических нарушений.

## ■ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Экспериментальное воспроизведение метаболических нарушений является основой доклинических исследований. К стандартным, наиболее воспроизводимым моделям относятся следующие:

1. Ожирение, ИР/МС. Для воспроизведения этого метаболического расстройства чаще используются мыши и крысы, реже – приматы и свиньи. Индукция включает высокожировые диеты (HFD), диеты с избытком фруктозы/сахарозы, «кафетерийные» диеты (имитация фаст-фуда). Генетические модели: ob/ob мыши (дефицит лептина), db/db мыши (дефект его рецептора), KK-Ay, NZO мыши (спонтанное ожирение и ИР / СД 2-го типа), а также мыши с нокаутом рецепторов инсулина в различных тканях. Комбинация HFD с низкими дозами стрептозотоцина (STZ) моделирует поздние стадии СД 2-го типа. Типичными изменениями являются:



абдоминальное ожирение, гиперинсулинемия, гипергликемия, дислипидемия, стеатоз печени и хроническое воспаление.

- Сахарный диабет 2-го типа. Развивается у грызунов на фоне МС. Основные методы индукции: HFD + низкие дозы STZ, генетические модели (db/db, KK-Ay). Нарушения включают стойкую гипергликемию, снижение толерантности к глюкозе, повышение уровня HbA1c, прогрессирующую дисфункцию  $\beta$ -клеток и микросудистые осложнения.
- Сахарный диабет 1-го типа. Используются спонтанные (NOD мыши, BB крысы) и индуцированные модели. STZ в высоких дозах вызывает селективную деструкцию инсулинотитов. Основные признаки: гипергликемия, гипоинсулинемия, кетоз, потеря массы тела. Модели применяются для изучения трансплантации островков и иммунотерапии.
- Дислипидемии и атеросклероз. Для воспроизведения этой формы патологии используются кролики ApoE<sup>-/-</sup> и LDLR<sup>-/-</sup>, мыши, хомяки, свиньи. Методы: высокохолестериновые диеты (HCD) и генетические мутации, нарушающие липидный клиренс. Воспроизводятся гиперхолестеринемия, повышение ХС ЛПНП и ТГ, формирование атеросклеротических бляшек, сосудистое воспаление.
- Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) / стеатогепатит (НАСГ). Грызуны на MCD-диете демонстрируют выраженный стеатоз и фиброз, но теряют массу тела, HFD и Western Diet (жиры + сахароза/фруктоза) имитируют метаболический фон НАСГ. Диета GAN (Gubra Amylin NASH) – наиболее близкая к клинической картине. Воспроизводятся стеатоз, воспаления, баллонная дегенерация, фиброз.
- Химическое индуцирование фиброза печени. CCl<sub>4</sub> и тиацетамид (ТАА) вызывают полное токсическое повреждение и фиброз, без метаболических сдвигов, часто сочетаются с HFD. Генетические модели (ob/ob, db/db) в комбинации с диетами вызывают стеатоз и воспаление, но слабый фиброз. Модель характеризуется повышением соотношения АЛТ/АСТ, гистологически выявляемым воспалением, коллагеновыми отложениями (окрашивание Sirius Red), повышенным уровнем PIIINP – маркера метаболизма коллагена III типа.
- Острая печеночная недостаточность. Моделируется у грызунов с помощью ацетаминофена («золотой стандарт»), CCl<sub>4</sub>, галактозамина, D-галактозамина, тиацетамида (ТАА). Отмечается резкое повышение соотношения АЛТ/АСТ, содержания билирубина, повышение МНО, снижение протромбинового индекса, гистологический некроз; возникает риск печеночной энцефалопатии и смерти. Используется для тестирования гепатопротекторов.
- Подагра и гиперурикемия. Индуцируется высокопуриновыми диетами и ингибиторами уриказы (оксоната калия). Введение кристаллов моноурата натрия (MSU) внутрисуставно имитирует подагрическую атаку. Характерны повышение содержания мочевой кислоты в сыворотке крови, воспаление суставов, отек и цитокиновый ответ (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ).

Ключевым принципом моделирования является выбор адекватной модели, соответствующей задачам исследования. Генетические модели информативны для изучения молекулярных механизмов, диет-индуцированные – для анализа влияния внешних факторов и терапевтических вмешательств.

Наиболее перспективными считаются комбинированные подходы, объединяющие генетические и диетологические компоненты, что позволяет максимально

приблизить экспериментальные условия к клинической реальности и повысить достоверность и ценность исследований.

## ■ КРИТЕРИИ ОТБОРА МОДЕЛЬНЫХ ОРГАНИЗМОВ И МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Выбор модельных организмов для биомедицинских исследований требует комплексного подхода, объединяющего биохимические, молекулярно-генетические и биоинформационные аспекты. Ключевым критерием служит возможность воспроизводить не только клинические проявления заболевания в модельном организме, но и патогенетические механизмы, сопоставимые с человеческими [20]. Особенно важно, что метаболические пути сохраняются неизменными, включая гликолиз,  $\beta$ -окисление жирных кислот, циклы нейтрализации реактивных форм кислорода и системы репарации ДНК [21]. Современные методы сравнительного анализа ферментативных систем организма животных разных видов основываются на интеграции данных из специализированных баз данных UniProt, KEGG, Ensembl и STRING.

При выборе модельного организма ключевую роль играет концепция прогностической достоверности – способность модели адекватно предсказывать клинические эффекты фармакологических вмешательств [22]. Для ее оценки необходимо комплексное изучение экспрессии молекулярных мишеней, динамики ферментативной активности, изменений метаболических профилей и фармакодинамических ответов. Традиционные модельные организмы в доклинических исследованиях – мыши, крысы, кролики и свиньи – продолжают оставаться основными объектами изучения [23]. Однако в последнее десятилетие наблюдается растущий интерес к альтернативным моделям, среди которых особого внимания заслуживают легочные пресноводные моллюски, например *Lymnaea stagnalis*, *Planorbarius corneus* и *Biomphalaria glabrata* [24]. Эти организмы имеют высокую чувствительность к различным токсикантам и обладают высококонсервативной системой антиоксидантной защиты [25]. Их нейроэндокринная система обеспечивает сложную регуляцию метаболических процессов, что делает эти модели перспективными для моделирования стрессиндуцированных нарушений. Однако важно учитывать и ограничения таких моделей – отсутствие адаптивного иммунитета, различия в системе цитохромов P450, метаболизирующих ксенобиотики, и другие видовые особенности, которые могут влиять на перенос результатов на человека [26, 27]. Большими практическими преимуществами моллюсков являются простота содержания в лабораторных условиях и соответствие современным этическим принципам 3R (Replacement, Reduction, Refinement) [28]. Современные мультиомиксные технологии открывают новые возможности для сравнительного анализа метаболических путей у различных модельных организмов. Метаболические исследования с использованием жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (LC-MS/MS) позволяют идентифицировать и количественно определять сотни низкомолекулярных соединений в биологических образцах [29]. Протеомные подходы, такие как iTRAQ и SWATH, дают комплексную характеристику белкового состава клеток и тканей [30]. Транскриптомный анализ методом RNA-seq обеспечивает полногеномное профилирование экспрессии генов [31]. Интеграция этих данных с использованием биоинформационных

платформ (Cytoscape, MetaboAnalyst, STRING) позволяет выявлять видоспецифичные и консервативные биомаркеры заболеваний, оценивать степень соответствия модели человеческой патологии и прогнозировать возможные расхождения в терапевтическом ответе [32–34]. Нобелевские премии 2024 г., посвященные некодирующим РНК, в частности микроРНК, а также созданию программ AlphaFold 1, 2, 3, которые не уступают по возможностям дорогостоящим экспериментальным методам рентгеноструктурного анализа, ядерного магнитного резонанса, криоэлектронной микроскопии и др., открывают новые возможности для анализа проявления биохимических синдромов, приводящих к экстремальным патологиям человека [35, 36]. Примером такого алгоритма является PentUnFOLD (сервер <http://pent-un-fold/dddsmu/by/pent-un-fold>), который позволяет определять наличие нестабильных (неупорядоченных) фрагментов в структуре белковых молекул [37].

## ■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Биохимические синдромы служат ключевыми патогенетическими звеньями в развитии как распространенных, так и экстремальных форм патологии. Их воспроизведение на адекватных модельных организмах является основой для доклинических исследований. Интеграция данных сравнительной энзимологии и мультиомиксных технологий позволяет оптимизировать выбор моделей, повышая точность прогнозирования терапевтических стратегий. Использование альтернативных моделей, включая беспозвоночных, в сочетании с современными омиксными технологиями представляет собой перспективное направление, позволяющее сочетать высокую научную ценность исследований с этическими и экономическими преимуществами.

## ■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Chirkin A.A., Okorokov A.N., Goncharik I.I. Diagnostic handbook of the therapist: clinical symptoms, progressive examination of patients, interpretation of data. Minsk: Belarus; 1992. (in Russian)
2. Chirkin A.A., Dotsenko E.A., Kamyshnikov V.S. Physiological values of laboratory tests in the population of the Republic of Belarus. Minsk: Adukatsiya i vykhavanne; 2010. (in Russian)
3. Chirkin A.A. Clinical analysis of laboratory data. Moscow: Med. lit.; 2019. (in Russian)
4. Barkovskiy U.V., Bokut' S.B., Borodinskiy A.N., et al. *Modern problems of biochemistry*. Minsk: Higher school; 2013. (in Russian)
5. Chirkin A.A., Danchenko E.O., Khrustalev V.V. *Biological chemistry*. Minsk: Higher school; 2023. (in Russian)
6. Taylor R., Al-Mrabeh A., Zhyzhneuskaya S., et al. Remission of Human type 2 diabetes requires decrease in liver and pancreas fat content but is dependent upon capacity for  $\beta$  cell recovery. *Cell Metab.* 2018;28(4):547–556. doi: 10.1016/j.cmet.2018.07.003
7. Baron M., Veres A., Samuel, Wolock S.L et al. A single-cell transcriptomic map of the human and mouse pancreas reveals inter- and intra-cell population structure. *Cell Systems.* 2016;3(4):346–360. doi: 10.1016/j.cels.2016.08.011
8. Suto K., Fukuda D., Shinohara M., et al. A novel selective peroxisome proliferator-activated receptor and modulator, reduces plasma eicosanoid levels and ameliorates endothelial dysfunction in diabetic mice. *J Atheroscler thromb.* 2021;28(12):1349–1360. doi: 10.5551/jat.61101
9. Perry R.J., Wang Y., Cline G.W., et al. Leptin mediates a glucose-fatty acid cycle to maintain glucose homeostasis in starvation. *Cell.* 2018;172(1–2):234–248. doi: 10.1016/j.cell.2017.12.001
10. Asgharpour A., Cazanave S.C., Pacana T., et al. A diet-induced animal model of non-alcoholic fatty liver disease and hepatocellular cancer. *J Hepatol.* 2016;6(3):579–588. doi: 10.1016/j.jhep.2016.05.005
11. Guy C., Suzuki A., Abdelmalek M., et al. Treatment response in the PIVENS trial is associated with decreased Hedgehog pathway activity. *Hepatology.* 2015;61(1):98–107. doi: 10.1016/j.jhep.2016.05.005
12. Adori C., Daraio T., Kuiper R., et al. Disorganization and degeneration of liver sympathetic innervations in nonalcoholic fatty liver disease revealed by 3D imaging. *Sci. Adv.* 2021;7(30):5733–5754. doi: 10.1126/sciadv.abg 5733
13. Nevzorova Y., Boyer-Diaz Z., Cubero F.J., et al. Animal models for liver disease – A practical approach for translational research. *J Hepatol.* 2020;73(2):423–440. doi: 10.1016/j.jhep.2020.04.011
14. Kuehr S., Kosfeld V., Schlechtriem C. Bioaccumulation assessment of nanomaterials using freshwater invertebrate species. *Environmental sciences Europe.* 2021;33(1):1–36. doi: 10.1186/s12302-020-00442-2
15. Boulajfene W., Lasram M., Zouari-Tlig S. Integrated biomarker response for environmental assessment using the gastropod *Phorcus turbinatus* along the northern and the northeastern coasts of Tunisia. *Life.* 2021;11(6):529–541. doi: 10.3390/life11060529
16. Liu H., Liu C., Huang J. Characterization of the shell proteins in two freshwater snails *Pomacea canaliculata* and *Cipangopaludina chinensis*. *Int J Biol Macromol.* 2023;242(Pt 1):124524–124538. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.124524

17. Qu Y., Zhang T., Zhang R., et al. Integrative assessment of biomarker responses in *Mytilus galloprovincialis* exposed to seawater acidification and copper ions. *Sci Total Environ.* 2022;851(Pt 1):158146–158164. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.158146
18. Sies, H., Jones, D.P. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2020;21(7):363–383. doi: 10.1038/s41580-020-0230-3
19. Schieber M., Navdeep S. ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Curr Biol.* 2014;24(10):R453–4 R462. doi: 10.1016/j.cub.2014.03.034
20. Enikanolaiye A., Justice M.J. Model systems inform rare disease diagnosis, therapeutic discovery and pre-clinical efficacy. *Emerging topics in life sciences.* 2019;3(1):1–10. doi: 10.1042/ETLS20180057
21. Khoder-Agha F., Kietzmann T. The glyco-redox interplay: Principles and consequences on the role of reactive oxygen species during protein glycosylation. *Redox Biol.* 2021;42:101888–101896. doi: 10.1016/j.redox.2021.101888
22. Pratt J.A., Robinson E.S., Fernandes C. BAP editorial: Improving the validity and translation of preclinical research. *J Psychopharmacol.* 2022;36(7):779–780. doi: 10.1177/02698811221104064
23. Mukherjee P., Roy S., Ghosh D., et al. Role of animal models in biomedical research: a review. *Lab Anim Res.* 2022;38(1):1–17. doi: 10.1186/s42826-022-00128-1
24. Chirkin A.A., Balaeva-Tikhomirova O.M., Semenov I.O., et al. Selection of model organisms for biomedical studies through the study of the molecular-structural homology of proteolytic enzymes. *News of biomedical sciences.* 2022;22(3):214–218. (in Russian)
25. Atli G., Grosell M. Characterization and response of antioxidant systems in the tissues of the freshwater pond snail (*Lymnaea stagnalis*) during acute copper exposure. *Aquatic Toxicology.* 2016;176(6):38–44. doi: 10.1016/j.aquatox.2016.04.007
26. Al-Khalaifah H. Cellular and humoral immune response between snail hosts and their parasites. *Front Immunol.* 2022;(13):981314–981324. doi: 10.3389/fimmu.2022.981314
27. Nandagopal A., Unnisa S.V., Shireen B., et al. Cytochrome P450 – role in drug metabolism and genetic polymorphism. *Indo Am. J. P. Sci.* 2018;05(04):2979–2989. doi: org/10.5281/zenodo.1231058
28. Chirkin A.A., Pinchuk P.YU., Vishnevskaya M.V., et al. Use of pulmonary freshwater mollusks for studying metabolic disorders. *News of biomedical sciences.* 2024;24(2):90–96. (in Russian)
29. Wishart D.S. Emerging applications of metabolomics in drug discovery and precision medicine. *Nat Rev Drug Discov.* 2016;15(7):473–484. doi: 10.1038/nrd.2016.32
30. Basak T., Bhat A., Malakar D. In-depth comparative proteomic analysis of yeast proteome using iTRAQ and SWATH based MS. *Mol BioSyst.* 2015;11(8):2135–2143. doi: 10.1039/C5MB00234F
31. Wang Z., Gerstein M., Snyder M. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. *Nat Rev Genet.* 2009;10(1):57–63. doi: 10.1038/nrg2484
32. Doncheva N.T., Morris J.H., Holze H., et al. Cytoscape stringApp 2.0: analysis and visualization of heterogeneous biological networks. *J Proteome Res.* 2023;22(2):637–646. doi: 10.1021/acs.jproteome.2c00651
33. Pang Z., Chong J., Zhou G., et al. MetaboAnalyst 5.0: narrowing the gap between raw spectra and functional insights. *Nucleic Acids Res.* 2021;49(W1):W388–W396. doi: 10.1093/nar/gkab382
34. Szklarczyk D., Gable A.L., Nastou K.C., et al. The STRING database in 2021: customizable protein-protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets. *Nucleic Acids Res.* 2021;49(D1):D605–D612. doi: 10.1093/nar/gkaa1074
35. Makarova J.A., Shkurnikov M.U., Wicklein D., et al. Intracellular and extracellular microRNA: An update on localization and biological role. *Prog. Histochem. Cytochem.* 2016;51(3–4):33–49. doi: 10.1016/j.proghi.2016.06.001
36. Morris R., Black K.A., Stollar E.J. Uncovering protein function: from classification to complexes. *Essays Biochem.* 2022;866(3):255–285. doi: 10.1042/EBC20200108
37. Poboinev V.V., Khrustalev V.V., Khrustaleva T.A., et al. The PentUnFOLD algorithm as a tool to distinguish the dark and the light sides of the structural instability of proteins. *Amino Acids.* 2022;54(8):1155–1171. doi: 10.1007/s00726-022-03153-5



<https://doi.org/10.34883/PI.2026.15.2.015>  
УДК 612.398.145.3:613.2.038:616-092.9



Митюкова Т.А.✉, Басалай А.А., Полулях О.Е., Костюченко Н.С., Бартош А.Е.  
Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

## Влияние лактоферринов на состояние про- и антиоксидантного статуса и энергетические метаболические процессы в ткани головного мозга крыс при диет-индуцированном висцеральном ожирении

**Конфликт интересов:** не заявлен.

**Вклад авторов:** Митюкова Т.А. – концепция исследования, обсуждение и интерпретация материала, написание текста; Басалай А.А. – сбор и обработка материала, обсуждение и интерпретация материала, редактирование, подготовка текста к печати; Полулях О.Е. – сбор и обработка материала, обсуждение и интерпретация материала, редактирование; Костюченко Н.С., Бартош А.Е. – сбор и обработка материала.

**Этическое заявление.** Исследование выполнено с соблюдением положений Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS № 123). Все манипуляции были согласованы и одобрены комитетом по биоэтике Института физиологии Национальной академии наук Беларуси (протокол № 1 от 24.01.2024).

**Финансирование:** работа выполнена на базе Института физиологии Национальной академии наук Беларуси в рамках Государственной программы научных исследований Национальной академии наук Беларуси № 2.3.13.

Подана: 10.09.2025

Принята: 18.02.2026

Контакты: mityukovat@gmail.com

### Резюме

**Введение.** Рост распространенности ожирения вызывает необходимость поиска биологически активных субстанций, предупреждающих либо нивелирующих его неблагоприятные последствия.

**Цель.** Оценить показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы в совокупности с некоторыми метаболическими процессами мозга у крыс-самцов при диет-индуцированном висцеральном ожирении и апробировать возможности коррекции выявленных нарушений с использованием лактоферринов – рекомбинантного человеческого и коровьего.

**Материалы и методы.** Экспериментальные исследования проводились на крысах-самцах вистар и включали группы животных, получавших стандартную диету вивария (СтД) и высококалорийную диету (ВКД) в течение 16 недель. В течение последних 8 недель крысам соответствующих групп вводили перорально лактоферрины: коровий (кЛФ) и рекомбинантный человеческий (рчЛФ), а также для сравнения – бычий сывороточный альбумин (БСА) в дозах 100 мг / кг массы тела. У животных всех групп регистрировали массу тела и висцерального жира, определяли биохимические показатели крови. В ткани головного мозга определяли содержание инсулина и транспортера глюкозы GLUT3, а также показатели про- и антиоксидантного статуса.

**Результаты.** Показано, что ВКД вызывает статистически значимое повышение показателей перекисного окисления липидов в ткани мозга крыс, при этом курсовое введение БСА нивелирует этот процесс; рчЛФ оказывает позитивное метаболическое влияние на транспорт глюкозы в мозге при ВКД.

**Заключение.** Проведенные исследования выявили благоприятные эффекты курсового введения БСА и рчЛФ, способствующие оптимизации метаболических процессов в мозге при диет-индуцированном висцеральном ожирении у крыс-самцов вистар.

**Ключевые слова:** крысы, висцеральное ожирение, лактоферрины, перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита организма, транспорт глюкозы, мозг

---

Mityukova T.✉, Basalai A., Poluliakh O., Kastsiuchenka M., Bartosh A.  
Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

## Effect of Lactoferrins on the State of Pro- and Antioxidate Status and Energy Metabolic Processes in Brain Tissue of Rats with Diet-Induced Visceral Obesity

**Conflict of interest:** nothing to declare.

**Authors' contribution:** Mityukova T. – study concept, material discussing and interpreting, text writing; Basalai A. – material collecting and processing, material discussing and interpreting, editing, preparing the text for printing; Poluliakh O. – material collecting and processing, material discussing and interpreting, editing; Kastsiuchenka M., Bartosh A. – material collecting and processing.

**Ethics statement.** The study was supported in compliance with the provisions of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS No. 123). All manipulations were agreed upon and approved by the Bioethics Committee of the Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (Protocol No. 1 of 24.01.2024).

**Funding:** the study was carried out at the Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus within the framework of the State Program of Scientific Research of the National Academy of Sciences of Belarus No. 2.3.13.

Submitted: 10.09.2025

Accepted: 18.02.2026

Contacts: mityukovat@gmail.com

### Abstract

---

**Introduction.** The increasing prevalence of obesity necessitates searching for biologically active substances that prevent or neutralize its adverse effects.

**Purpose.** To evaluate markers of lipid peroxidation and the antioxidant system in combination with some metabolic processes in the brain of male rats with diet-induced visceral obesity and to test the possibilities of correcting the identified disorders using lactoferrins – recombinant human and bovine.

**Materials and methods.** Experimental studies were conducted on male Wistar rats and included groups of animals fed a standard vivarium diet (StD) and a high-calorie diet (HCD) for 16 weeks. During the last 8 weeks, the rats of the corresponding groups were orally administered lactoferrins: bovine (bLF) and recombinant human (rhLF), and bovine serum albumin (BSA) for comparison at doses of 100 mg/kg/body weight. Body weight and visceral fat content were recorded in all groups, and blood biochemistry parameters were determined. The content of insulin and glucose transporter GLUT3, as well as indicators of pro- and antioxidant status, were determined in the brain tissue.

**Results.** It was shown that HCD caused a statistically significant increase in lipid peroxidation in rat brain tissue, while a course of BSA neutralized this process; rhLF had a positive metabolic effect on glucose transport to the brain during HCD.



**Conclusion.** The studies conducted revealed the beneficial effects of BSA and rhLF administration, contributing to the optimization of metabolic processes in the brain during diet-induced visceral obesity in male Wistar rats.

**Keywords:** rats, visceral obesity, lactoferrins, lipid peroxidation, antioxidant defense, glucose transport, brain

## ■ ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время ожирение рассматривается как глобальная проблема здравоохранения, поскольку его распространенность достигает 30–40% во всех странах мира [1, 2]. Более того, ожирение признано фактором риска для многих заболеваний, таких как сердечно-сосудистая патология, жировой гепатоз, сахарный диабет и онкологические заболевания [3]. Показано, что ожирение вызывает нарастание активных форм кислорода, причем не только в периферических тканях, но и в цереброкортикальной ткани. Это нарушает функции мозга, т. е. увеличивает риск нейрональных дисфункций, воспалительных процессов и нейродегенеративных заболеваний [4]. Окислительный стресс связан с увеличением количества радикалов, разрушающих сосудистые и нейрональные клетки центральной нервной системы, образуя дисбаланс между свободными радикалами кислорода и антиоксидантной защитной системой. Поэтому важен поиск веществ с выраженными антиоксидантными и нейропротекторными свойствами. В настоящее время наиболее изученными веществами с антиоксидантным действием являются биофлавоноиды растительного происхождения [5]. Однако следует учитывать, что на фоне нарастания свободнорадикальных реакций могут поражаться многие другие важные метаболические процессы мозга, например поступление глюкозы в мозг [6]. В настоящее время установлено, что нарушения транспорта глюкозы в мозг и, соответственно, энергетического гомеостаза нервной ткани регистрируются при сахарном диабете 2-го типа и могут приводить к развитию болезни Альцгеймера [6].

Учитывая тесную связь ожирения с патологическими процессами в ткани мозга, актуальной проблемой является поиск биологически активных молекул, способных подавлять свободнорадикальное окисление и нормализовать основные метаболические процессы в нервной ткани. В этом плане привлекает внимание белок лактоферрин (ЛФ), присутствующий в молоке млекопитающих и имеющий видовую специфичность. Являясь основным железосвязывающим белком, обнаруженным в молоке и других биологических жидкостях, ЛФ оказывает антибактериальное, противовирусное, противовоспалительное, иммуномодулирующее и антиканцерогенное действие. Благодаря его способности проникать через гематоэнцефалический барьер, были получены данные об использовании экзогенного человеческого ЛФ в качестве терапевтического средства для лечения нейродегенеративных и цереброваскулярных заболеваний, задержек развития у детей, опухолей головного мозга и других неврологических заболеваний [7]. Доклинические испытания показывают, что ЛФ защищает развивающийся мозг от повреждения нейронов, усиливает межклеточные связи и продукцию нейротрофинов, а также уменьшает воспаление в моделях перинатального воспалительного провокационного

воздействия, задержки внутриутробного развития и неонатальную гипоксию-ишемию [8]. Экспериментальные исследования с использованием коровьего ЛФ (кЛФ) демонстрируют его нейропротекторное действие у животных. Беременные крысы вистар получали диету, дополненную кЛФ (1 г/кг) в течение беременности, когда часть самок подвергалась 60-минутной гипоксии. Лактоферрин предотвращал окислительный стресс и восстанавливал митохондриальную функцию гиппокампа у крысят, подвергавшихся неонатальной гипоксии [9]. Другие исследования также подтверждают нейропротекцию при повреждениях головного мозга у новорожденных крысят с применением кЛФ в период грудного вскармливания [10]. В экспериментах на крысах с использованием апоформы рекомбинантного человеческого ЛФ (рчЛФ) обнаружены защитные свойства препарата против экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита при окклюзии медиальной мозговой артерии (инсульт), а также при экспериментальной болезни Паркинсона [11]. В настоящее время получены данные, подтверждающие идентичность человеческого природного и рекомбинантного белков ЛФ, что позволяет рассматривать рчЛФ в качестве перспективной биологически активной пищевой добавки либо фармацевтического препарата [12].

Наряду с большим спектром экспериментальных работ, демонстрирующих нейропротективные свойства кЛФ и рчЛФ при гипоксии и других неврологических патологиях, практически отсутствуют сведения о возможности коррекции морфофункционального состояния мозга при ожирении. Следует отметить, что наши предыдущие исследования выявили признаки нейровоспаления и нейродегенерации в префронтальной коре мозга и большинстве областей гиппокампа у самцов и самок крыс с диет-индуцированным висцеральным ожирением [13, 14].

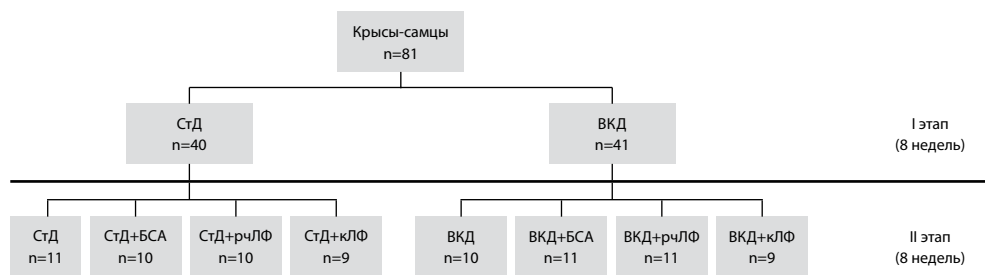
## ■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы в совокупности с некоторыми метаболическими процессами мозга у крыс-самцов при диет-индуцированном висцеральном ожирении и апробировать возможности коррекции выявленных нарушений с использованием лактоферринов – рекомбинантного человеческого и коровьего.

## ■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено с соблюдением положений Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS No. 123). Все манипуляции были согласованы и одобрены комитетом по биоэтике Института физиологии НАН Беларуси (протокол № 1 от 24.01.2024).

Проводилось изучение влияния рчЛФ и кЛФ в сопоставлении с относительно нейтральным белком – бычьим сывороточным альбумином (БСА) – на масс-метрические, биохимические и гормональные показатели самцов крыс вистар при стандартной (СтД) и высококалорийной (ВКД) диетах. Общая продолжительность эксперимента составила 16 недель, в течение последних 8 недель животным соответствующих групп вводили перорально растворы рчЛФ, кЛФ или БСА в дозе 100 мг / кг массы тела, а животным из групп СтД и ВКД – растворитель (апирогенный физиологический раствор) в объеме 500 мкл / кг массы тела (рис. 1).



**Рис. 1. Схема эксперимента**  
**Fig. 1. Experimental design**

В работе были использованы препараты рчЛФ и кЛФ производства Республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству», г. Жодино.

Модель ВКД включала введение в стандартный рацион вивария дополнительно количества жиров животного происхождения в виде свиного сала (45% дополнительно к СтД) и углеводов (питьевая вода замещалась на 10% раствор фруктозы со свободным доступом к поилкам) [15].

Выведение животных из эксперимента осуществляли под тиопенталовым наркозом, проводили взятие крови с последующим отделением сыворотки и выполняли диссекцию висцеральной жировой ткани (паранефральные и эпидидимальные жировые отложения). Массу тела крыс оценивали прижизненно на весах SATURN (Китай), массу висцерального жира (после выведения из эксперимента) – на лабораторных весах Scout Pro (Китай). Массовый коэффициент (МК) рассчитывали по формуле  $МК = (\text{масса висцеральной жировой ткани} / \text{масса тела}) \times 100\%$ .

Определение концентрации триглицеридов (ТГ), общего холестерина (ОХ), холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛПВП), холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП), глюкозы, альфа-амилазы в сыворотке крови и общего белка в гомогенатах мозга проводили с использованием наборов реагентов фирмы «Диасенс» (Республика Беларусь) на автоматическом биохимическом анализаторе Mindray BS-200 (Китай) с программным обеспечением BS-330. Содержание инсулина и глюкозного транспортера 3 GLUT3 в гомогенатах мозга определяли с использованием ИФА-наборов фирмы Fine test (Китай) на иммуноферментном анализаторе Chem Well (США) и выражали в нг / г белка. Рассчитывали коэффициент, отражающий соотношение концентрации GLUT3 к концентрации инсулина, по формуле  $K = [GLUT3], \text{нг} / \text{г} \text{ белка} / [\text{Инсулин}], \text{нг} / \text{г} \text{ белка}$ . Определение малонового диальдегида (МДА), активности супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы в гомогенатах мозга проводили спектрофотометрическими методами [16–18] соответственно. Расчет содержания МДА и активности каталазы в ткани головного мозга проводился на г сырой ткани.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 12.0. Результаты выражали в виде средней величины и средней стандартной ошибки ( $M \pm SEM$ ). Статистическую значимость межгрупповых отличий оценивали с помощью дисперсионного анализа ANOVA с последующим post-hoc-анализом по F-критерию

Фишера. Отличия между группами считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

## ■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из данных, представленных на рис. 2, масса тела крыс всех экспериментальных групп нарастала в ходе эксперимента в соответствии с их взрослением, но не зависела от характера питания.

У крыс всех групп, получавших ВКД, зарегистрировано статистически значимое увеличение массы и МК висцерального жира (рис. 3). Пероральное курсовое введение рЧЛФ статистически значимо уменьшало массу и МК висцеральной жировой ткани у животных, получавших стандартную диету вивария.

Определение биохимических показателей крови (табл. 1) выявило статистически значимое повышение уровней ОХ, ХС-ЛПВП, ХС-ЛПНП, глюкозы и альфа-амилазы в сыворотке крови животных, получавших ВКД, независимо от вариантов коррекции, что свидетельствует о нарушениях состояния липидного и углеводного обмена, а также функции поджелудочной железы. Курсовое воздействие рЧЛФ вызывало статистически значимое снижение содержания ТГ в сыворотке крови крыс, получавших стандартную диету. Введение кЛФ приводило к повышению уровня ОХ в сыворотке крови за счет нарастания фракции ХС-ЛПВП при СтД, что можно рассматривать как компенсированный вариант повышения содержания ОХ в сыворотке крови животных. Концентрация инсулина в сыворотке крови экспериментальных животных существенно не менялась в зависимости от диеты и вводимых препаратов.

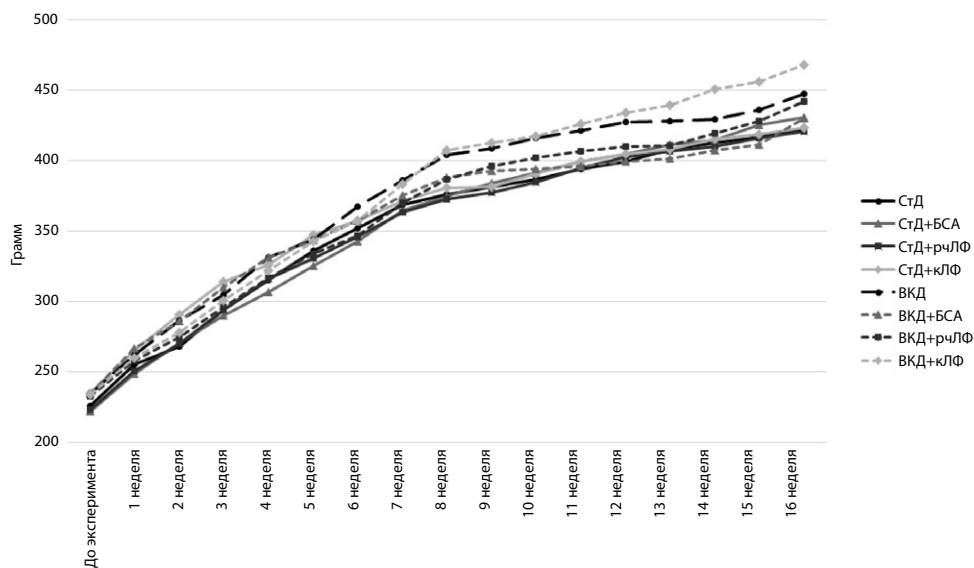
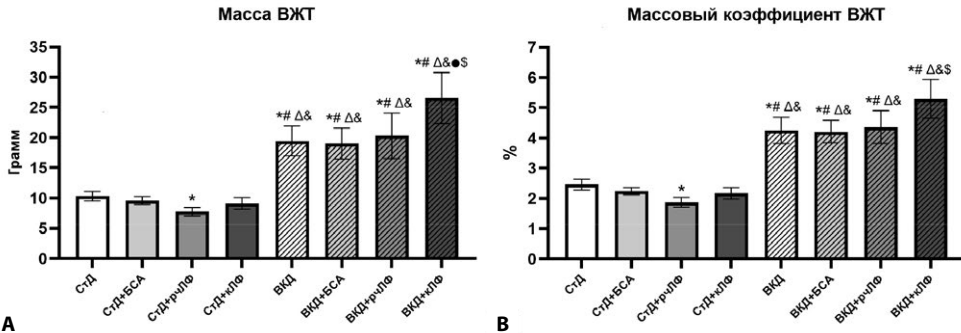


Рис. 2. Динамика массы тела крыс-самцов в течение эксперимента  
Fig. 2. Changes in body weight of male rats over time during the experiment



**Рис. 3. Масса (А) и массовый коэффициент (В) висцеральной жировой ткани (ВЖТ) у крыс-самцов всех экспериментальных групп**

Примечания: статистически значимые различия при  $p < 0,05$ : \* от СтД, <sup>#</sup> от СтД+БСА, <sup>Δ</sup> от СтД+рчЛФ, <sup>●</sup> от СтД+кЛФ, <sup>●</sup> от ВКД, <sup>§</sup> от ВКД+БСА.

**Fig. 3. Mass (A) and mass coefficient (B) of visceral adipose tissue in male rats of all experimental groups**

Определение показателей перекисного окисления липидов в ткани головного мозга крыс при высококалорийной диете выявило статистически значимое повышение уровня МДА без изменения активности ферментов антиоксидантной защиты – СОД и каталазы (табл. 2). Аналогичное повышение уровня МДА было зарегистрировано при висцеральном ожирении на фоне применения лактоферринов, однако введение рчЛФ животным, получавшим ВКД, приводило к статистически значимому нарастанию активности СОД на 20,3% по сравнению с таковой в группе СтД; при этом кЛФ не оказывал влияния на ферменты антиоксидантной защиты (табл. 2). Обращает на себя внимание тот факт, что концентрация МДА в ткани мозга оставалась в пределах контрольных величин в группе животных, которым вводили раствор БСА на фоне высококалорийной диеты. Известно, что БСА – транспортный белок крови, который играет важную роль в защите организма от вредного воздействия свободных радикалов. Этот белок осуществляет связывание металлов переменной валентности, а также содержит восстановленные сульфгидрильные группы в составе своей молекулы, что обеспечивает обезвреживание свободных радикалов, присутствующих в крови [19, 20]. Полученные данные демонстрируют, что БСА противодействует процессам перекисного окисления липидов в ткани мозга.

Учитывая, что основным энергетическим субстратом для центральной нервной системы является глюкоза, представляло интерес определить содержание GLUT3, который рассматривается как основной транспортер глюкозы в нейроны. Известно, что GLUT3 связывает глюкозу с высоким сродством и большой транспортной емкостью, что важно для энергетического метаболизма нейронов [21, 22]. Вопрос о роли инсулина в регуляции поглощения глюкозы клетками мозга является до сих пор предметом научных дискуссий. Однако существуют оригинальные исследования, демонстрирующие, что инсулин способствует перемещению GLUT3 из цитоплазмы клетки к плазматической мембране нейронов [23]. Данные визуализации глюкозы указывают на то, что экспрессия рецепторов к инсулину (IR $\beta$ ) в нейронах приводит

**Таблица 1**  
Биохимические показатели сыворотки крови у крыс-самцов всех экспериментальных групп  
**Table 1**  
Biochemical parameters of blood serum in male rats of all experimental groups

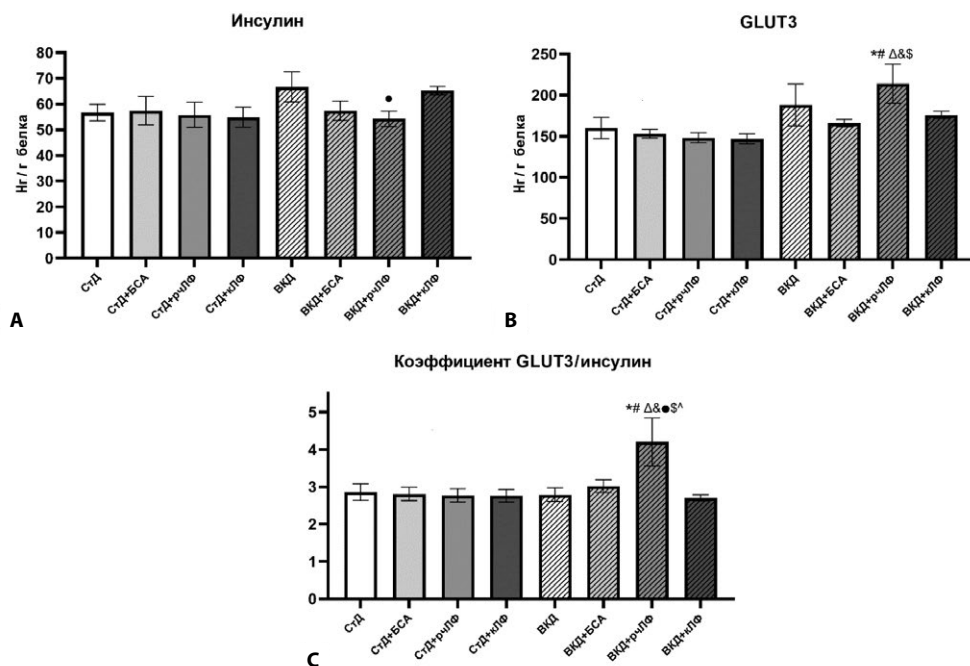
Показатель	Группы									
	Стандартная диета (СтД)					Высококалорийная диета (ВКД)				
	СтД	СтД+БСА	СтД+рчЛФ	СтД+кЛФ	ВКД	ВКД+БСА	ВКД+рчЛФ	ВКД+кЛФ	ВКД+рчЛФ	ВКД+кЛФ
Триглицериды, ммоль/л	1,13±0,11	1,13±0,20	<b>0,71±0,06</b> **	1,14±0,11	<b>1,39±0,15</b> Δ	<b>1,39±0,23</b> Δ	<b>1,48±0,25</b> Δ	1,15±0,19		
Общий холестерин, ммоль/л	1,41±0,08	1,41±0,10	1,29±0,05	<b>1,82±0,09</b> **Δ	<b>1,63±0,08</b> **Δ	<b>1,69±0,06</b> **Δ	<b>1,70±0,09</b> **Δ	<b>1,87±0,11</b> **Δ		
ХС-ЛПВП, ммоль/л	0,66±0,03	0,66±0,05	0,61±0,03	<b>0,81±0,05</b> **Δ	<b>0,77±0,05</b> **Δ	<b>0,74±0,03</b> Δ	<b>0,77±0,05</b> Δ	<b>0,86±0,05</b> **Δ		
ХС-ЛПНП, ммоль/л	0,13±0,02	0,13±0,01	0,17±0,02	0,17±0,01	<b>0,22±0,02</b> **	<b>0,23±0,02</b> **Δ&	<b>0,22±0,01</b> **Δ	<b>0,25±0,03</b> **Δ&•		
Глюкоза, ммоль/л	5,80±0,30	5,33±0,14	5,35±0,25	5,58±0,26	<b>6,64±0,29</b> **Δ&	<b>7,06±0,31</b> **Δ&	<b>7,31±0,26</b> **Δ&	<b>8,70±0,54</b> **Δ&•\$		
Альфа-амилаза, Ед/л	604,03±25,46	571,23±34,48	537,00±35,88	578,15±35,98	<b>702,47±30,15</b> **Δ&	<b>753,02±37,71</b> **Δ&	<b>765,58±33,34</b> **Δ&	<b>795,75±30,22</b> **Δ&		
Инсулин, нг/мл	1,92±0,88	1,86±0,83	1,79±0,70	1,93±0,70	3,91±1,84	1,73±0,77	1,32±0,37	4,86±1,86		

Примечание: статистически значимые различия при p<0,05: \* от СтД, Δ от СтД+БСА, Δ от СтД+рчЛФ, Δ от СтД+кЛФ, • от ВКД, Δ от ВКД+БСА, Δ от ВКД+рчЛФ.

**Таблица 2**  
Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у крыс-самцов всех экспериментальных групп в ткани головного мозга  
**Table 2**  
Lipid peroxidation and antioxidant protection indices in male rats of all experimental groups in brain tissue

Показатель	Группы									
	Стандартная диета (СтД)					Высококалорийная диета (ВКД)				
	СтД	СтД+БСА	СтД+рчЛФ	СтД+кЛФ	ВКД	ВКД+БСА	ВКД+рчЛФ	ВКД+кЛФ	ВКД+рчЛФ	ВКД+кЛФ
МДА, мкмоль / г ткани	7,99±0,39	8,33±0,35	8,38±0,66	8,28±0,35	9,29±0,59*	8,63±0,33	9,53±0,53*	10,14±0,42*#		Δ&\$
СОД, усл. ед.	37,40±3,08	42,82±2,41	39,59±2,74	42,17±1,68	43,03±2,40	42,91±3,16	45,01±2,83*	41,58±2,22		
Каталаза, нмоль/мин на г ткани	3,71±0,17	3,87±0,2	3,77±0,16	4,12±0,18	3,84±0,24	3,51±0,17&	3,94±0,15	3,80±0,18		

Примечание: статистически значимые различия при p<0,05: \* от СтД, Δ от СтД+БСА, Δ от СтД+рчЛФ, Δ от СтД+кЛФ, Δ от ВКД+БСА.



**Рис. 4. Содержание инсулина (А), GLUT3 (В) и их соотношение (С) в гомогенатах мозга крыс-самцов всех экспериментальных групп**

Примечания: статистически значимые различия при  $p < 0,05$ : \* от СтД, # от СтД+БСА, Δ от СтД+рчЛФ, § от СтД+кЛФ, ° от ВКД, § от ВКД+БСА, ^ от ВКД+кЛФ.

**Fig. 4. Content of insulin (A), GLUT3 (B) and their ratio (C) in brain homogenates of male rats of all experimental groups**

к значительному повышению поглощения и скорости утилизации глюкозы по сравнению с нейронами с низкой экспрессией IRβ [24]. Более того, наличие IRβ ассоциируется с существенным повышением экспрессии GLUT3, особенно в общей мембранной субклеточной фракции [24].

Определение содержания инсулина в ткани мозга выявило тенденцию к его повышению в группе высококалорийного питания (рис. 4А). При этом концентрация инсулина в мозге крыс, получавших высококалорийное питание и курсовое введение рчЛФ (ВКД+рчЛФ), была статистически значимо ниже по сравнению с группой ВКД (рис. 4А). Таким образом, введение рчЛФ крысам с висцеральным ожирением способствовало нормализации уровня инсулина в ткани мозга. Интересно, что содержание GLUT3 в ЦНС этих животных (ВКД+рчЛФ) было значимо выше, чем в ряде других групп (СтД, СтД+БСА, СтД+рчЛФ, СтД+кЛФ и ВКД+БСА) (рис. 4В).

С учетом данных литературы [24] была проведена оценка содержания инсулина и экспрессии GLUT3 в ткани мозга. Рассчитывали коэффициент соотношения концентрации GLUT3 на единицу инсулина ( $K_{\text{GLUT3/инсулин}}$ ). Как видно из рис. 4С, этот коэффициент был значимо повышен в мозге крыс с висцеральным ожирением, получавших рчЛФ, относительно всех других экспериментальных групп. Последнее подтверждает позитивное влияние рчЛФ на транспорт глюкозы в мозг.

## ■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты выполненного экспериментального исследования показали, что длительная 16-недельная высококалорийная диета приводит к существенному накоплению висцеральной жировой ткани и метаболическим сдвигам в сыворотке крови, характерным для ожирения, а также к нарастанию выраженности перекисного окисления липидов в ткани мозга у крыс-самцов вистар.

Пероральное курсовое введение изучаемых препаратов крысам-самцам в дозе 100 мг / кг массы тела вызывает следующие эффекты:

- при стандартной диете применение рЧЛФ приводит к снижению накопления висцерального жира и уровня триглицеридов в сыворотке крови; применение кЛФ приводит к повышению уровня общего холестерина и фракции ХС-ЛПВП в сыворотке крови, что соответствует сохранению баланса в системе транспорта холестерина;
  - при ВКД на фоне курсового введения рЧЛФ отмечается нарастание антиоксидантной активности СОД и повышение транспорта глюкозы в ткани мозга; БСА нивелирует нарастание процессов перекисного окисления липидов в ткани мозга крыс. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования рЧЛФ в качестве БАД как при сбалансированном, так и при избыточном питании.
- 

## ■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Hales C.M., Carroll M.D., Fryar C.D., et al. Prevalence of obesity among adults and youth: United States, 2015–2016. *NCHS Data Brief*. 2017;288:1–8.
2. Afshin A., Forouzanfar M.H., Reitsma M.B., et al. Health effects of overweight and obesity in 195 countries over 25 years. *N Engl J Med*. 2017;377(1):13–27. doi: 10.1056/NEJMoa1614362
3. Galstyan G.R., Shestakova E.A., Sklyanik I.A. Obesity and type 2 diabetes: can we find a compromised treatment solution? *Diabetes mellitus*. 2017;20(4):270–278. doi: 10.14341/DM8726 (In Russian)
4. Mullins C.A., Gannaban R.B., Khan M.S., et al. Neural underpinnings of obesity: the role of oxidative stress and inflammation in the brain. *Antioxidants (Basel)*. 2020;9(10):1018. doi: 10.3390/antiox9101018
5. Rege S.D., Kumar S., Wilson D.N., et al. Resveratrol protects the brain of obese mice from oxidative damage. *Oxid Med Cell Longev*. 2013;2013:419092. doi: 10.1155/2013/419092
6. Koepsell H. Glucose transporters in brain in health and disease. *Pflügers Arch*. 2020;472(9):1299–1343. doi: 10.1007/s00424-020-02441-x
7. Li Y.Q., Guo C. A review on lactoferrin and central nervous system diseases. *Cells*. 2021;10(7):1810. doi: 10.3390/cells10071810
8. Schirmbeck G.H., Sizonenko S., Sanches E.F. Neuroprotective role of lactoferrin during early brain development and injury through lifespan. *Nutrients*. 2022;14(14):2923. doi: 10.3390/nu14142923
9. Carvalho A.V.S., Sanches E.F., Ribeiro R.T., et al. Maternal lactoferrin supplementation prevents mitochondrial and redox homeostasis dysfunction, and improves antioxidant defenses through Nrf2 and UCP2 signaling after neonatal hypoxia-ischemia. *Free Radic Biol Med*. 2025;231:68–79. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2025.02.036
10. Sanches E., van de Looij Y., Sow S., et al. Dose-dependent neuroprotective effects of bovine lactoferrin following neonatal hypoxia-ischemia in the immature rat brain. *Nutrients*. 2021;13(11):3880. doi: 10.3390/nu13113880
11. Zakharova E.T., Sokolov A.V., Pavlichenko N.N., et al. Erythropoietin and Nrf2: key factors in the neuroprotection provided by apo-lactoferrin. *Biometals*. 2018;31(3):425–443. doi: 10.1007/s10534-018-0111-9
12. Semenov D.A., Valentovich L.N., Akhremchuk K.U., et al. Interactions of recombinant human lactoferrin with deoxyribonucleic acids. *Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*. 2025;69(4):279–290. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2025-69-4-279-290> (In Russian)
13. Kuznetsova T.E., Mityukova T.A., Basalai A.A., et al. Morphological signs of neurodegenerative and inflammatory processes in the brain of rats on a high-calorie diet. *Global Translational Medicine*. 2025;4(1):80–89. <https://doi.org/10.36922/gtm.5000>
14. Kuznetsova T.E., Mityukova T.A., Basalai A.A., et al. Histostructure of the hippocampus in male and female Wistar rats with diet-induced visceral obesity and after diet correction. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2025;178(5):647–653. doi: 10.1007/s10517-025-06391-1
15. Gancheva S., Zhelyazkova-Savova M., Galunskа B. Experimental models of metabolic syndrome in rats. *Scripta Scientifica Medica*. 2015;47(2):14–21. doi: <http://dx.doi.org/10.14748/ssm.v47i2.1145>
16. Khoubnasabjafari M., Ansarin K., Jouyban A. Reliability of malondialdehyde as a biomarker of oxidative stress in psychological disorders. *Bioimpacts*. 2015;5(3):123–127. doi: 10.15171/bi.2015.20
17. Sirota T.V. A new approach to the investigation of adrenaline autooxidation and its application for determination of superoxide dismutase activity. *Questions of medicinal chemistry*. 1999;3:263–272. (In Russian)
18. Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Maiorova I.T. Method for determination of catalase activity. *Laboratory science*. 1988;1:16–19. (In Russian)
19. Kornoushenko Yu.V., Ignatenko V.A., Avdeev P.A., et al. Interaction between some low-molecular agents with different chemical structure and bovine serum albumin. *Health and Ecology Issues*. 2011;3(3):114–121. <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2011-8-3-23> (In Russian)
20. Belinskaia D.A., Voronina P.A., Shmurak V.I., et al. Serum albumin in health and disease: esterase, antioxidant, transporting and signaling properties. *Int J Mol Sci*. 2021;22(19):10318. doi: 10.3390/ijms221910318
21. Peng W., Tan C., Mo L., et al. Glucose transporter 3 in neuronal glucose metabolism: Health and diseases. *Metabolism*. 2021;123:154869. doi: 10.1016/j.metabol.2021.154869
22. Koepsell H. Glucose transporters in brain in health and disease. *Pflügers Arch*. 2020;472(9):1299–1343. doi: 10.1007/s00424-020-02441-x
23. Uemura E., Greenlee M.H. Insulin regulates glucose uptake by promoting translocation of glucose transporter GLUT3. *Experimental neurology*. 2006;198(1):48–53. doi: 10.1016/j.expneurol.2005.10.035
24. Frazier H.N., Ghowery A.O., Anderson K.L., et al. Elevating insulin signaling using a constitutively active insulin receptor increases glucose metabolism and expression of GLUT3 in hippocampal neurons. *Front Neurosci*. 2020;14:668. doi: 10.3389/fnins.2020.00668