

УДК 577.29

<https://doi.org/10.17816/MAJ108286>

ВОЗМОЖНОСТЬ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ САХАРНОГО ДИАБЕТА 1-го И 2-го ТИПОВ, АУТОИММУННОГО И НЕАУТОИММУННОГО ТИРЕОИДИТА С ПОМОЩЬЮ РАСЧЕТНОГО ИНДЕКСА НА ОСНОВЕ АКТИВНОСТИ ИЗОФОРМ БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ ПЛАЗМЫ КРОВИ

Д.И. Козлова¹, В.В. Хижа¹, Л.В. Аносова², А.А. Королькова³, С.С. Беневоленская⁴, Д.С. Васильев¹, А.В. Рыбаков⁵, К.А. Юрьева⁶, М.Е. Шевалдина⁵, М.Ф. Баллюзек⁷

¹ Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия;

² Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт уха, горла, носа и речи, Санкт-Петербург, Россия;

³ Сыктывкарский государственный университет имени Питирима Сорокина, Сыктывкар, Россия;

⁴ Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия;

⁵ Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия;

⁶ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

⁷ Санкт-Петербургская клиническая больница Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

Для цитирования: Козлова Д.И., Хижа В.В., Аносова Л.В., Королькова А.А., Беневоленская С.С., Васильев Д.С., Рыбаков А.В., Юрьева К.А., Шевалдина М.Е., Баллюзек М.Ф. Возможность дифференциальной диагностики сахарного диабета 1-го и 2-го типов, аутоиммунного и неаутоиммунного тиреоидита с помощью расчетного индекса на основе активности изоформ бутирилхолинэстеразы плазмы крови // Медицинский академический журнал. 2022. Т. 22. № 3. С. 61–72. DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ108286>

Рукопись получена: 17.06.2022

Рукопись одобрена: 08.09.2022

Опубликована: 30.09.2022

Обоснование. Возможность использования диагностического индекса, основанного на объективном изменении показателей плазмы крови для дифференциальной диагностики сахарного диабета 1-го и 2-го типов, аутоиммунного и неаутоиммунного тиреоидита, — актуальная задача для своевременного принятия решения о применении того или иного вида терапии с учетом этиологии конкретной патологии. Изменение соотношения активности изоформ бутирилхолинэстеразы плазмы крови позволяет разделять патологии между собой на ранних этапах в зависимости от генеза, а на этапе дальнейшего лечения — оценивать активность заболеваний и эффективность применяемых терапевтических стратегий.

Цель — разработать расчетный диагностический индекс для дифференциальной диагностики аутоиммунного типа диабета и тиреоидита от схожих по симптоматике неаутоиммунных патологий, используя соотношение активностей изоформ псевдохлинэстеразы плазмы крови.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 188 человек: 45 пациентов с диагнозом сахарного диабета 1-го типа; 60 пациентов с диагнозом сахарного диабета 2-го типа; 25 пациентов с диагнозом аутоиммунного тиреоидита; 25 пациентов с тиреоидитом неаутоиммунной природы; группу контроля составили 33 здоровых добровольца. Группы были выровнены по полу и возрасту. Пациенты всех групп прошли осмотр у врача-эндокринолога и терапевта. Диагнозы ставили в соответствии с Клиническими рекомендациями Российской ассоциации эндокринологов по диагностике и лечению аутоиммунного тиреоидита у взрослых, а также с Клиническими рекомендациями «Сахарный диабет 1-го типа у взрослых». В плазме крови всех групп пациентов анализом определяли активность форм псевдохлинэстеразы (бутирилхолинэстеразы), используя модификацию метода Элмана в сочетании с ингибиторным анализом. Расчет индекса производили на основе соотношения активностей типичной и атипичной форм исследуемого фермента. По результатам анализа данных по всем обследованным группам были определены диагностические интервалы, характерные для каждого диагноза, а также для условно здоровых людей. Сравнение распределения пациентов по категориям диагноза осуществляли с помощью критерия хи-квадрат с поправкой Йейтса в пакете статистических программ SPSS 22.

Результаты. Результаты анализа плазмы крови показали, что при диагнозах аутоиммунного тиреоидита и сахарного диабета 1-го типа происходит повышение активности типичной изоформы бутирилхолинэстеразы, при этом активность атипичной формы остается более стабильной. Соотношение этих форм было положено в основу разработки расчетного диагностического индекса. Диагностический индекс для контрольной группы попадал в интервал 1–2, для группы с тиреоидитом неаутоиммунной природы — 2,1–2,9, с аутоиммунным тиреоидитом — 3–3,5, с сахарным диабетом 1-го типа — 3,6–5, с сахарным диабетом 2-го типа — 0–1. Статистический анализ данных показал, что диагностика на основе индекса, полученного таким образом, по чувствительности и специфичности не уступает стандартным диагностическим шкалам. Полученные данные согласуются с клиническими данными, подтверждающими каждый диагноз.

Заключение. Расчетный индекс на основе активности бутирилхолинэстеразы представляет собой перспективный, малоинвазивный, быстрый и бюджетный метод, позволяющий четко дифференцировать схожие по симптоматике, но различные по этиологии сахарный диабет 1-го и 2-го типа, аутоиммунный и неаутоиммунный

Список сокращений

АИТ — аутоиммунный тиреоидит; БХЭ — бутирилхолинэстераза; НАИТ — тиреоидит неаутоиммунной природы; СД1 — сахарный диабет 1-го типа; СД2 — сахарный диабет 2-го типа.

тиреоидит, что имеет критическое значение при выборе терапевтической стратегии и улучшает качество жизни пациентов.

Ключевые слова: аутоиммунный тиреоидит; неаутоиммунный тиреоидит; сахарный диабет 1-го типа; сахарный диабет 2-го типа; бутирилхолинэстераза; плазма крови; биомаркер; изоформы; расчетный индекс.

THE FIRST AND THE SECOND TYPES OF DIABETES MELLITUS, AUTOIMMUNE AND NON-AUTOIMMUNE THYROIDITIS DIFFERENTIAL DIAGNOSIS POSSIBILITY USING THE CALCULATED INDEX BASED ON PLASMA BUTYRYLCHOLINESTERASE ISOFORMS ACTIVITY

Daria I. Kozlova¹, Vitaliy V. Khizha¹, Lyudmila V. Anosova², Anastasia A. Korolkova³, Svetlana S. Benevolenskaya⁴, Dmitrii S. Vasilev¹, Arseniy V. Rybakov⁵, Karina A. Yureva⁶, Mariia E. Shevaldina⁵, Marina F. Ballyzek⁷

¹ Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia;

² St.-Petersburg Scientific Research Institute of Ear, Nose, Throat and Speech, Saint Petersburg, Russia;

³ Pitiirim Sorokin Syktyvkar State University, Syktyvkar, Russia;

⁴ Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia;

⁵ Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, Saint Petersburg, Russia;

⁶ Saint-Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia;

⁷ St. Petersburg Clinical Hospital of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia

For citation: Kozlova DI, Khizha VV, Anosova LV, Korolkova AA, Benevolenskaya SS, Vasilev DS, Rybakov AV, Yureva KA, Shevaldina ME, Ballyzek MF. The first and the second types of diabetes mellitus, autoimmune and non-autoimmune thyroiditis differential diagnosis possibility using the calculated index based on plasma butyrylcholinesterase isoforms activity. *Medical Academic Journal*. 2022;22(3):61–72. DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ108286>

Received: 17.06.2022

Accepted: 08.09.2022

Published: 30.09.2022

BACKGROUND: The possibility of using a diagnostic index based on the use of blood plasma objective indicators to differentiate the diagnosis of type 1 and type 2 diabetes mellitus, autoimmune and non-autoimmune thyroiditis is an urgent task for timely decision-making on the use of a particular type of therapy, taking into account the etiology of a particular pathology. Changing the ratio of blood plasma butyrylcholinesterase isoforms activity makes it possible to identify increased excitability, to separate them among themselves depending on the genesis, and during treatment, to assess the activity of diseases and the effectiveness of therapeutic measures.

AIM: To develop a calculated diagnostic index for the differential diagnosis of diabetes and thyroiditis autoimmune type from symptomatically similar non-autoimmune pathologies, using the ratio of the plasma pseudocholinesterase isoforms activities.

MATERIALS AND METHODS: The study involved 188 people: 45 patients diagnosed with type 1 diabetes; 60 patients diagnosed with type 2 diabetes; 25 patients diagnosed with autoimmune thyroiditis; 25 patients with non-autoimmune thyroiditis; the control group consisted of 33 healthy volunteers. The groups were aligned by gender and age. Patients of all groups were examined by an endocrinologist and a therapist. The diagnoses were made in accordance with the Clinical Guidelines of the Russian Endocrinologists Association for the Diagnosis and Treatment of Autoimmune Thyroiditis in Adults, as well as the Clinical Guidelines “Type 1 Diabetes Mellitus in Adults”. In the blood plasma of all patients’ groups, the activity of pseudocholinesterase (butyrylcholinesterase) forms was determined by analysis using a modification of the Ellman’s method in combination with inhibitory analysis. The index was calculated based on the ratio of the studied enzyme typical and atypical forms activities. Based on the results of data analysis for all examined groups, diagnostic intervals were determined that are characteristic for each diagnosis, as well as for conditionally healthy people. Comparison of the patients distribution by categories of diagnosis was carried out using the X-square test with Yates correction in the SPSS 22 statistical software package.

RESULTS: The results of the blood plasma analysis determined that in the diagnoses of autoimmune thyroiditis and type 1 diabetes mellitus, there was an increase in the activity of increased activity of the butyrylcholinesterase isoform, while the activity of the atypical form remains more stable. The ratio of these forms was taken as the basis for the development of the calculated diagnostic index. Diagnostic index for the control group in the range of 1–2; for patients with non-autoimmune thyroiditis – 2,1–2,9; autoimmune thyroiditis – 3–3,5; type 1 diabetes mellitus – 3,6–5; type 2 diabetes – 0–1. Statistical analysis of the data showed that the diagnosis based on the index obtained in this way does not inferior to the diagnostic scales in terms of sensitivity and specificity. The findings are consistent with the evolution of data supporting each diagnosis.

CONCLUSIONS: The calculated index on the basis of butyrylcholinesterase activity is a promising, minimally invasive, fast and budgetary method, revealing a pronounced severity of occurrence in terms of symptoms, but different in etiology, type 1 diabetes mellitus and type 2 diabetes mellitus, autoimmune thyroiditis and thyroiditis of a non-autoimmune nature, which is of critical importance when choosing a therapeutic strategy and improving the quality of life of patients.

Keywords: autoimmune thyroiditis; non-autoimmune thyroiditis; type 1 diabetes mellitus; type 2 diabetes mellitus; butyrylcholinesterase; blood plasma; biomarker; isoforms; calculated index.

Обоснование

В современном обществе проблема аутоиммунных заболеваний выходит на одно из лидирующих мест. На 2021 г. приблизительно 795 млн человек официально поставлен диагноз одного из аутоиммунных заболеваний. С каждым годом на 12,5 % возрастает численность людей с аутоиммунными заболеваниями. Диагноз аутоиммунного тиреоидита Хашимото (АИТ) поставлен 4 млн человек в России, а сахарный диабет первого типа (СД1) — 265 тыс. [1]. Аутоиммунные заболевания, особенно на ранних стадиях, характеризуются симптоматической мимикрией с заболеваниями другой природы [2, 3]. Диагностика этих заболеваний производится на основании наличия косвенных признаков (например, повышение сахара крови натощак, боль и отечность суставов, поражения кожи и т. д.), имеет большой процент серонегативных результатов [4], что зачастую приводит к постановке ошибочного диагноза и выбору неверной стратегии лечения. Одна из важнейших задач научных исследований — поиск биомаркеров, позволяющих выявить СД1 и АИТ как можно раньше и отделить их от схожих по симптоматике заболеваний, имеющих иную этиологию. Известно, что холинэргическая система участвует в регуляции иммунного ответа посредством воздействия растворимых форм холинэстеразы плазмы крови, в том числе бутирилхолинэстеразы (БХЭ), на клетки макрофагальной линии. Активация воспалительных процессов может сопровождаться изменением активности растворимых холинэстераз, что позволяет рассматривать ее в качестве простого в определении биомаркера воспалительных процессов, дифференцировать различные заболевания аутоиммунной природы от сходных по симптоматике аналогов. Вместе с тем данные об активности псевдохолинэстеразы (она же БХЭ) в плазме крови пациентов с такими заболеваниями в литературе практически отсутствуют. Исходя из этого представляется необходимым исследовать, какие изменения происходят в активности БХЭ плазмы крови при развитии аутоиммунных заболеваний, в частности СД1 и АИТ. Известно, что БХЭ кодируется единственным геном *BCHE* (*CHET*), расположенным на длинном плече третьей хромосомы между позициями 26.1 и 26.2 [5]. Для данного фермента характерен полиаллелизм, в результате чего кроме типичной изоформы, преобладающей в человеческой популяции, существует еще 75 природных мутаций, отличающихся по активности. Разделить изоформы БХЭ возможно, используя различные ингибиторы. Так, типичная форма БХЭ (дикого типа) устойчива к ингибированию аро-

матическими аналогами ацетилхолина, такими как тизанидин [5-хлор-N-(4,5-дигидро-1H-имидазол-2-ил)-2,1,3-бензотиадиазол-4-амин], входящий в состав миорелаксанта сирдалуда. Данная форма не несет генетических мутаций и встречается у большинства людей. Следующей изоформой, которая встречается у 20–35 % людей в популяции, носит название «атипичной формы». Данная изоформа характеризуется заменой Asp98Gly и в ряде случаев Asp98His. Эти мутации находятся в периферическом анионном сайте фермента и влекут за собой десятикратное уменьшение связывающей способности положительно заряженных субстратов [6]. Для нее характерна устойчивость к ингибированию алифатическими аналогами ацетилхолина, к которым относится суксаметония хлорид — действующее вещество миорелаксанта листенона. Данная форма также высоковосприимчива к воздействию антихолинэстеразных препаратов, токсических фосфорорганических соединений, короткодействующих миорелаксантов (сукцинилхолина и миварукия хлорида) [7]. Под «минорными» изоформами в данной статье подразумевается группа из более чем 70 различных генетических модификаций фермента. Многие из них также имеют специфичную чувствительность к различным обратимым и необратимым ингибиторам. Активность данной группы изоформ можно зарегистрировать только при одновременном присутствии тизанидина, суксаметония хлорида и профенамина, то есть при полном подавлении активности превалирующих форм БХЭ. Принимая во внимание существование в плазме крови пациентов множества форм БХЭ, включая наиболее распространенную типичную и множество минорных форм, которые могут выполнять разные роли в системе молекулярного сигналинга, сравнительное исследование удельной активности этих форм в норме и при патологии представляется наиболее информативным. В связи с этим нами было проведено исследование активности типичной, атипичной и минорных форм БХЭ в плазме крови пациентов с аутоиммунными и неаутоиммунными патологиями, схожими по симптоматике, но различающимися по этиологии и применяемым стратегиям лечения.

Материалы и методы

Нами были обследованы 188 человек: 45 — с диагнозом СД1, 60 — с сахарным диабетом 2-го типа (СД2), 25 — с АИТ, 25 — с тиреоидитом неаутоиммунной природы (НАИТ); группы контроля составили 33 здоровых добровольца.

Критериями включения пациентов в исследование в группу АИТ было соответствие следующим диагностическим критериям [8]:

1) наличие первичного гипотиреоза (манифестный или стойкий субклинический); 2) наличие антител к тиреотропному гормону и тиреопероксидазе; 3) ультразвуковые признаки аутоиммунной патологии.

Критериями включения пациентов в исследование в группу СД1 было соответствие следующим диагностическим критериям [9]: 1) уровень глюкозы в плазме крови после 8 ч голодания выше 6,1 ммоль/л; 2) отсутствие С-пептида в плазме крови; 3) наличие антител к β -клеткам островков Лангерганса и инсулину.

В данное исследование были включены пациенты с указанными диагнозами, проходившие амбулаторное обследование на базе отделения эндокринологии Санкт-Петербургской клинической больницы Российской академии наук. Критериями исключения в обеих группах являлись: отказ пациента от участия в исследовании; наличие любой активной инфекции в период исследования; наличие онкологических заболеваний в период исследования; наличие хронических неинфекционных заболеваний в стадии декомпенсации; наличие мягкого когнитивного снижения сосудистого типа.

Забор крови у пациентов для анализа активности ферментов проводили в вакуумные пробирки с антикоагулянтом (Li-гепарин), полученные образцы центрифугировали при 21 °С и 2000 г 15 мин, после чего надосадочную жидкость повторно центрифугировали при 9000 г 20 мин. Полученную плазму крови разделяли на аликвоты и хранили в низкотемпературном холодильнике при –80 °С в течение недели до проведения исследования по определению активности изоформ БХЭ.

Определение активности изоформ БХЭ плазмы крови осуществляли согласно запатентованному коллективом авторов способу, описанному в Евразийском патенте № 033501, сочетающему в себе метод Элмана [10] и ингибиторный анализ [11]. Суть данного способа заключается в том, что активность типичной формы определяют в присутствии ингибитора атипичной формы фермента — сукцинилхолина, активность атипичной формы определяют в присутствии ингибитора типичной формы — тизанидина, далее из полученных значений вычитали значения, полученные при определении активности минорных изоформ в присутствии тизанидина и сукцинилхолина одновременно. Таким образом можно получить чистую активность типичной и атипичной форм, исключив вклад минорных изоформ. Реакционную смесь, содержащую 5 мкл анализируемой плазмы крови и комбинацию реактивов, описанную в патенте, инкубировали в течение 10 мин при комнатной температуре, после чего во все лунки, содержащие исследуемые

образцы, добавляли додецилсульфат натрия, что позволяло прекратить дальнейшее развитие окраски за счет денатурирующего действия агента на белковые молекулы. После этого измеряли оптическую плотность с использованием прибора ImmunoChem-2100 (MicroplateReader, США) при длине волны 405 нм. Полученные данные об оптической плотности использовали для расчета удельной активности изоформ фермента [нмоль БТХ/(мг белка · мин)]. Значение диагностического индекса получали путем вычисления отношения активности типичной формы БХЭ к активности ее атипичной формы. Затем полученные значения использовали для определения диагностических интервалов, характерных для СД1 и АИТ, а также СД2 и НАИТ. Диагностические интервалы контрольной группы получены в ходе предварительных анализов диагностического индекса. Ранее в патенте № 033501 «Способ дифференциальной диагностики ранней или выраженной стадии ревматоидного артрита с остеоартритом» была проанализирована активность форм БХЭ у пациентов с ревматоидным артритом и контрольной группы здоровых доноров без нарушений внимания и памяти. Данные пациентов контрольной группы позволили определить границы диагностического интервала нормы, применяемого в последующих исследованиях. Если диагностический коэффициент превышал интервал значений нормы, пациентам ставили диагноз СД1 или АИТ в зависимости от симптоматики, на основании которой они обратились за медицинской помощью.

Статистическая обработка данных

Для каждого заболевания проводили сравнение эффективности диагностического критерия, основанного на определении профиля активности различных форм БХЭ с существующими диагностическими критериями (для НАИТ и АИТ — определение количества антител к тиреопероксидазе (АТ-ТПО) и к тиреоглобулину (АТ-ТГ), для СД2 — индекс инсулинорезистентности (НОМА-IR). Для каждого критерия оценивали специфичность (доля истинно отрицательных случаев, выраженная в процентах общего количества отрицательных диагнозов) и чувствительность (доля истинно положительных случаев, выраженная в процентах общего количества положительных диагнозов соответствующего заболевания). Сравнение распределения пациентов по категориям диагноза при использовании диагностического коэффициента, АТ-ТПО, АТ-ТГ, НОМА-IR, либо в результате комплексного обследования осуществляли с помощью критерия хи-квадрат с поправкой Йейтса в пакете статистических программ SPSS 22. Всего обследовали 119 пациентов. Поскольку

пациентам с диагнозами СД1 и СД2 анализ АТ-ТПО и АТ-ТГ не проводили, при анализе этих показателей общее количество рассматриваемых испытуемых не превышало 77.

Результаты

В группе пациентов с СД1 медиана длительности заболевания составила 12,5 (1; 25) лет, в группе СД2 — 10 (1; 20) лет, в группе АИТ — 12,5 (1; 25) лет, в группе НАИТ — 11 (1; 22) лет. В табл. 1 представлены данные оценки в плазме крови пациентов параметров АТ-ТПО, АТ-ТГ, НОМА-IR.

По результатам обследования пациентов с использованием диагностических критериев для каждого заболевания, а также по результатам лабораторных исследований клиницистами было поставлено 33 диагноза «здоров» (контрольная группа — КГ), 45 диагнозов СД1, 60 — СД2, 25 — АИТ и 25 — НАИТ.

В ходе лабораторного исследования плазмы крови по определению активности разных форм БХЭ показано, что у пациентов с диагнозами

НАИТ и СД2 активность типичной и минорных форм БХЭ достоверно не отличалась от активности тех же форм у КГ (табл. 2). Важно отметить, что у пациентов с диагнозом СД2 активность атипичной формы БХЭ настолько мала, что практически не отличается от фоновых значений (в лунках без добавления образцов плазмы крови), тогда как при НАИТ активность данной формы существенно превышает фоновые значения и достоверно не отличается от активности в КГ (табл. 2).

Использование показателей активности отдельных изоформ БХЭ неудобно для целей клинической и лабораторной диагностики. В связи с этим было принято решение о разработке расчетного коэффициента на основе соотношения наиболее информативных изоформ и определении диагностических интервалов, которые обладают наибольшей предсказательной силой при постановке дифференциального диагноза. В результате проведенного анализа было выявлено, что наибольшую предсказательную силу имеет соотношение активности типичной формы БХЭ к активности ее атипичной

Таблица 1 / Table 1

Клиническая характеристика пациентов, включенных в исследование
Clinical characteristics of patients included in the study

Диагноз	Средний возраст, годы	АТ-ТПО, Ед/мл	АТ-ТГ, МЕ/мл	НОМА-IR, усл. ед.
Здоров ($n = 33$)	56 ± 2	$8,15 \pm 1,21$	$9,52 \pm 0,3$	$0,97 \pm 0,0$
СД1 ($n = 45$)	26 ± 2	—	—	$0,12 \pm 0,0$
СД2 ($n = 60$)	43 ± 27	—	—	$0,27 \pm 1,2$
АИТ ($n = 25$)	44 ± 27	$919,66 \pm 10,2^*$	$339,68 \pm 21,9^*$	$1,34 \pm 0,0^*$
НАИТ ($n = 25$)	40 ± 27	$19,48 \pm 2,5^*$	$53,75 \pm 1,2^*$	$1,06 \pm 0,0^*$

Примечание. СД1 — сахарный диабет 1-го типа; СД2 — сахарный диабет 2-го типа; АИТ — аутоиммунный тиреодит; НАИТ — тиреодит неаутоиммунной природы; АТ-ТПО — количество антител к тиреопероксидазе; АТ-ТГ — количество антител к тиреоглобулину; НОМА-IR — индекс инсулинорезистентности. * статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

Таблица 2 / Table 2

Активность типичной, атипичной и минорных изоформ бутирилхолинэстеразы в плазме крови всех групп пациентов
Activity of blood plasma typical, atypical and minor butyrylcholinesterase in all patients groups

Группа пациентов	Активность форм бутирилхолинэстеразы (нмоль субстрата/мг/мин)		
	типичная	атипичная	минорная
КГ	$769,8 \pm 38,0$	$409,3 \pm 12,1$	$333,9 \pm 13,7$
СД1	$1757,9 \pm 72,0^*$	$423,2 \pm 14,0^*$	$617,3 \pm 20,9^*$
СД2	$880,8 \pm 12,0^*$	$0,0 \pm 0,0^*$	$332,6 \pm 9,0$
АИТ	$1362,0 \pm 70,0^*$	$418,4 \pm 13,7$	$922,4 \pm 21,7^*$
НАИТ	$877,8 \pm 358,0^*$	$411,3 \pm 16,0$	$303,12 \pm 17,4$

Примечание. КГ — контрольная группа; СД1 — сахарный диабет 1-го типа; СД2 — сахарный диабет 2-го типа; АИТ — аутоиммунный тиреодит; НАИТ — тиреодит неаутоиммунной природы. * статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

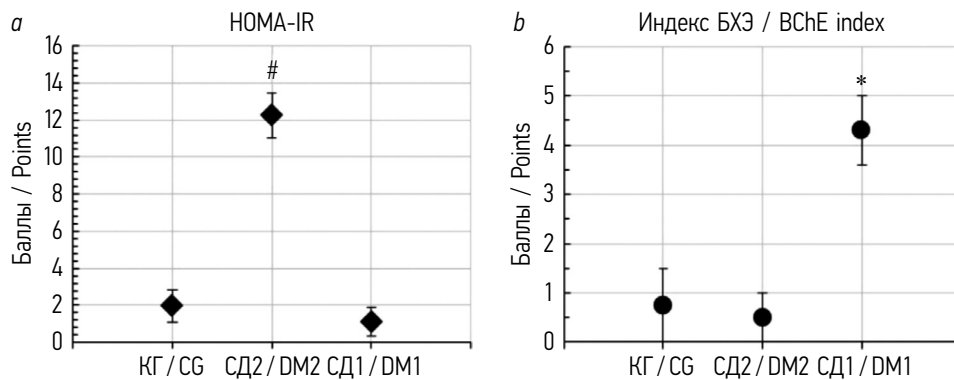


Рис. 1. Сравнение диаграмм индекса инсулинорезистентности НОМА-IR (a) и разработанного диагностического индекса на основе активности изоформ бутирилхолинэстеразы (БХЭ) (b). КГ — контрольная группа; СД1 — сахарный диабет 1-го типа; СД2 — сахарный диабет 2-го типа. *статистически значимые различия по сравнению с КГ и СД2 ($p < 0,05$); # статистически значимые различия по сравнению с КГ и СД1 ($p < 0,05$)

Fig. 1. Comparison of the insulin resistance index (НОМА-IR) (a) and the developed diagnostic index based on the activity of isoforms of butyrylcholinesterase (BChE) (b) diagrams. CG — control group; CD1 — type 1 diabetes mellitus; DM2 — type 2 diabetes mellitus. *statistically significant differences compared to CG and DM2 ($p < 0.05$); # statistically significant differences compared to CG and DM1 ($p < 0.05$)

формы. В соответствии с выбранным подходом диагностический интервал находится в следующих пределах: группа условно здоровых доноров от 0 до 1,5; НАИТ — от 2 до 2,9; АИТ — от 3 до 3,5; СД1 — от 3,6 до 5 и СД2 — от 0 до 1.

В существующей клинической практике индекс НОМА-IR не обязателен (не рекомендован) для подтверждения диагноза СД2, однако он может быть назначен для данной цели при условии, что у пациента уровень глюкозы в крови $< 7,0$ ммоль/л. На настоящий момент нет рекомендованных и используемых на регулярной основе методик, которые позволили бы быстро, бюджетно и эффективно разграничить диагнозы СД1 и СД2. На рис. 1 продемонстрировано, что предложенный нами индекс на основе активности изоформ БХЭ позволяет достоверно отделить СД1 от группы контроля и пациентов с СД2.

Статистический анализ полученных показателей индекса на основе активности БХЭ показал, что диагноз, поставленный с его использованием значимо не отличался от диагноза, поставленного врачами (табл. 3).

Проведенное сравнение распределения пациентов по категориям диагноза по индексу НОМА-IR и истинному диагнозу, а также сравнение с индексом БХЭ показало, что результаты диагностики пациентов на основе предложенного индекса значимо не отличались от диагноза, поставленного по индексу НОМА-IR ($\chi^2 = 5,172$, $p = 1,000$) (табл. 4). Однако по специфичности индекс на основе анализа БХЭ превосходит индекс НОМА-IR и позволяет дифференцировать пациентов с СД1 и СД2 с большей точностью, чем НОМА-IR, дающий в ряде случаев ложнопозитивные диагнозы (табл. 4).

Таблица 3 / Table 3

Сравнение распределения пациентов СД1 по категориям диагноза между индексом на основе анализа бутирилхолинэстеразы и истинным диагнозом

Comparison of DM1 patients' distribution by diagnosis categories between the index based on the butyrylcholinesterase analysis and the true diagnosis

Показатель	Фактическое состояние	Диагноз по индексу бутирилхолинэстеразы
Истинно позитивные (СД1)	45	45
Истинно негативные (КГ, СД2, НАИТ, АИТ)	143	143
Ложнопозитивные (здоровые)	0	0
Ложнонегативные (СД2)	0	0
Чувствительность, %	—	100
Специфичность, %	—	100

Примечание. КГ — контрольная группа; СД1 — сахарный диабет 1-го типа; СД2 — сахарный диабет 2-го типа; АИТ — аутоиммунный тиреозит; НАИТ — тиреозит неаутоиммунной природы. Число степеней свободы равно 3; связь между факторным и результативным признаками статистически не значима, уровень значимости $p > 0,05$

Сравнение распределения пациентов СД2 по категориям диагноза между методом диагностики на основе HOMA-IR, индексом на основе анализа бутирилхолинэстеразы и истинным диагнозом

Comparison of type 2 diabetes mellitus patients' distribution by category of diagnosis between diagnostic methods based on HOMA-IR, index based on butyrylcholinesterase analysis and true diagnosis

Показатель	Фактическое состояние	Диагноз по HOMA-IR	Диагноз по индексу бутирилхолинэстеразы
Истинно позитивные (СД2)	60	60	60
Истинно негативные (КГ, СД1, АИТ, НАИТ)	128	123	128
Ложнопозитивные (здоровые)	0	5	0
Ложнонегативные (СД2)	0	0	0
Чувствительность, %	—	100	100
Специфичность, %	—	95,7	100

Примечание. КГ — контрольная группа; СД1 — сахарный диабет 1-го типа; СД2 — сахарный диабет 2-го типа; АИТ — аутоиммунный тиреодит; НАИТ — тиреодит неаутоиммунной природы, HOMA-IR — индекс инсулинорезистентности. Число степеней свободы равно 3; связь между факторным и результативным признаками статистически не значима.

Для подтверждения диагноза АИТ кроме стандартных диагностических процедур, предусмотренных Клиническими рекомендациями Российской ассоциации эндокринологов по диагностике и лечению аутоиммунного тиреодита у взрослых, могут быть рекомендованы исследования наличия аутоантител к тиреоглобулину и тиреопероксидазе. Данная методика в ряде случаев позволяет эффективно подтвердить диагноз, но она имеет ряд ограничений. Один из наиболее существенных недостатков данного метода — наличие перекрестного повышения аутоантител при наличии у пациента

какого-либо аутоиммунного заболевания. В этих случаях основное заболевание вызывает выработку аутоантител, характерных для данной патологии, и параллельно возрастают титры других аутоантител. При этом коморбидность по аутоиммунным заболеваниям наступает не во всех случаях. Предложенный нами индекс позволяет отделить друг от друга АИТ и НАИТ (рис. 2), а также позволяет исключить возможность ошибочного повышения, полученного на основе данного индекса значения до интервала характерного для АИТ, при наличии другой аутоиммунной патологии.

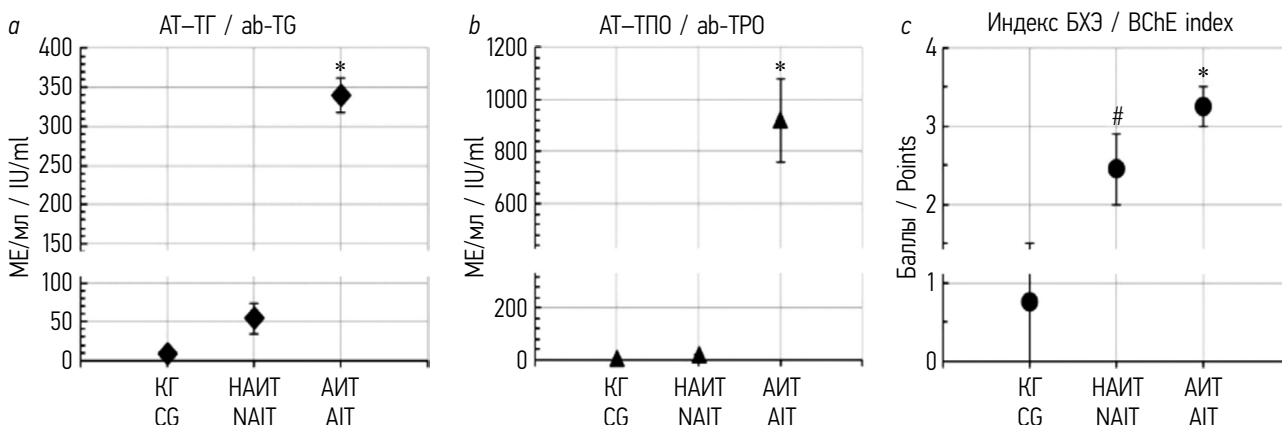


Рис. 2. Сравнение диаграмм, отражающих количество антител к тиреоглобулину (АТ-ТГ) (а) и тиреопероксидазе (АТ-ТПО) (б), с диаграммой распределения показателей по индексу на основе анализа бутирилхолинэстеразы (БХЭ) (с). КГ — контрольная группа; АИТ — аутоиммунный тиреодит; НАИТ — тиреодит неаутоиммунной природы. *статистически значимые различия по сравнению с КГ и НАИТ ($p < 0,05$); #статистически значимые различия по сравнению с КГ и АИТ ($p < 0,05$)

Fig. 2. Comparison of diagrams showing the amount of antibodies to thyroglobulin (ab-TG) (a) and thyroperoxidase (ab-TPO) (b), with a diagram of the indicators by index based on the butyrylcholinesterase (BChE) analysis distribution (c). CG — control group; АИТ — autoimmune thyroiditis; НАИТ — non-autoimmune thyroiditis. *statistically significant differences compared to CG and NAIT ($p < 0.05$); #statistically significant differences compared to CG and АИТ ($p < 0.05$)

Таблица 5 / Table 5

Сравнение распределения пациентов группы НАИТ по категориям между индексом на основе анализа бутирилхолинэстеразы и истинным диагнозом

Comparison of NAIT patients' distribution by categories between the index based on the butyrylcholinesterase analysis and the true diagnosis

Показатель		Фактическое состояние	Диагноз по индексу бутирилхолинэстеразы
Истинно позитивные (НАИТ)		25	23
Истинно негативные	КГ (здоровые)	33	30
	АИТ	25	25
Ложнопозитивные (КГ)		0	3
Ложнонегативные (НАИТ)		0	2
Чувствительность, %		—	92
Специфичность, %		—	94,2

Примечание. КГ — контрольная группа; АИТ — аутоиммунный тиреоидит; НАИТ — тиреоидит неаутоиммунной природы. Число степеней свободы равно 3; связь между факторным и результативным признаками статистически не значима, уровень значимости $p > 0,05$.

Таблица 6 / Table 6

Сравнение распределения пациентов группы АИТ по категориям между истинным диагнозом, клинической характеристикой на основе параметров АТ-ТПО и АТ-ТГ и индексом на основе анализа бутирилхолинэстеразы

Comparison of patients in the AIT group distribution by category between the true diagnosis, clinical characteristic based on the parameters of ab-TPO and ab-TG and an index based on the butyrylcholinesterase analysis

Диагноз		Фактическое состояние	Наличие АТ-ТПО	Наличие АТ-ТГ	Диагноз по индексу бутирилхолинэстеразы
Истинно позитивные (АИТ)		25	25	24	25
Истинно негативные	КГ (здоровые)	33	33	33	33
	НАИТ	25	24	23	25
Ложнопозитивные (НАИТ)		0	1	2	0
Ложнонегативные (АИТ)		0	0	1	0
Чувствительность, %		—	96,2	92,3	100
Специфичность, %		—	100	98	100

Примечание. АТ-ТПО — количество антител к тиреопероксидазе; АТ-ТГ — количество антител к тиреоглобулину; КГ — контрольная группа; АИТ — аутоиммунный тиреоидит; НАИТ — тиреоидит неаутоиммунной природы. Число степеней свободы равно 3; связь между факторным и результативным признаками статистически не значима, уровень значимости $p > 0,05$.

Статистический анализ полученных показателей индекса на основе активности БХЭ у пациентов группы НАИТ показал, что диагноз по данному параметру значимо не отличался от диагноза, поставленного врачами ($\chi^2 = 5,172$, $p = 0,160$) (табл. 5).

Как и при диагностике СД2, специфичность и чувствительность метода на основе индекса БХЭ при диагностике НАИТ ниже, чем при диагностике АИТ (табл. 6).

По чувствительности и специфичности метод на основе индекса БХЭ при диагностике АИТ превосходит диагностический критерий наличия АТ-ТГ, а по чувствительности немного превосходит метод, основанный на наличии АТ-ТПО.

Предложенный метод позволяет дифференцировать пациентов с АИТ и НАИТ с большей точностью, чем методики на основе анализа аутоантител. Метод на основе индекса БХЭ позволяет производить дифференциацию схожих по симптоматике, но различных по этиологии заболеваний, в то время как методики на основе анализа аутоантител такой возможности не дают.

Обсуждение

Холинергическую систему давно рассматривают в качестве одного из центральных участников нейроиммунного взаимодействия, а ферменты ацетилхолинэстеразы и БХЭ — внутренние

регуляторы иммунных реакций, опосредованных лимфоцитами, макрофагами, дендритными клетками, адипоцитами, кератиноцитами, эндотелиальными и эпителиальными клетками [12–16]. При аутоиммунных заболеваниях, таких как рассеянный склероз, происходят изменения активности БХЭ, сопровождающие поражения белого вещества. U.N. Das [13] высказал предположение, что БХЭ может быть вовлечена в нейровоспаление посредством гидролиза ацетилхолина, и что повышение ее активности приводит к снижению уровня ацетилхолина и отсутствию холинергических противовоспалительных реакций, что может усиливать системное воспаление при аутоиммунных заболеваниях. Ранее нами было показано [17], что изменение общей активности БХЭ относительно четко позволяет отделить типы сахарного диабета друг от друга, а также выявить наличие аутоиммунного процесса в организме пациентов с диагнозами СД1 и АИТ. Настоящее исследование не только продемонстрировало увеличение общей активности исследованного фермента, но и показало, за счет вклада активности каких его изоформ происходят данные изменения. Кроме того, в данной статье предложен вариант расчета диагностического индекса на основе соотношения активностей типичной и атипичной изоформ БХЭ, а также определены диагностические интервалы, позволяющие производить дифференциальную диагностику аутоиммунного типа диабета СД1 и АИТ от заболеваний со схожей симптоматикой, имеющих иную природу (СД2 и НАИТ). Таким образом, полученные результаты могут быть положены в основу быстрой, точной и бюджетной диагностической тест-системы. В настоящем исследовании, как и в случае с рассеянным склерозом [18], нам удалось продемонстрировать увеличение активности различных изоформ БХЭ на фоне острого аутоиммунного процесса при СД1 и АИТ, что подтверждает гипотезу об участии данного фермента в усилении системного воспаления, характерного для всех аутоиммунных заболеваний. Показано, что за развитие АИТ и СД1 в разной степени отвечают разные изоформы БХЭ, что позволяет отличить их друг от друга.

В нашем исследовании интервал диагностического индекса от 2 до 2,9 позволил подтвердить наличие диагноза НАИТ и достоверно отделить его от диагноза АИТ, для которого характерным является интервал от 3 до 3,5. Параллельно показано, что при подтвержденном диагнозе СД1 диагностический интервал индекса составляет 3,6 до 5, тогда как у схожего по симптоматике СД2 он находится в пределах от 0 до 1. Чувствительность и специфичность полученного нами диагностического индекса на 98,3 %

соответствует существующим критериям, используемым в настоящее время для постановки диагноза, а в случае подтверждения аутоиммунной природы диабета или тиреоидита чувствительность и специфичность индекса на основе соотношения активности форм БХЭ выше существующих методов диагностики. Индекс, основанный на определении активности изоформ данного фермента, не требует приобретения сложных дорогостоящих многокомпонентных наборов, содержащих антитела к исследуемым аутоантителам, требующих правильного хранения и эксплуатации. Предлагаемый индекс позволяет быстро проводить скрининговые обследования широких групп населения с целью подтверждения аутоиммунной природы сахарного диабета и тиреоидита.

Результаты исследования представляют большой практический интерес для внедрения в клинично-лабораторную диагностику. Диагностическая тест-система на основе данного исследования обладает небольшой себестоимостью в производстве, при этом позволяет производить одновременное тестирование образцов, полученных от 32 пациентов. Для проведения исследования требуется небольшой объем крови (1 мл), что имеет существенное значение при работе с пациентами разного возраста (в том числе с детьми), а также проходящими стационарное или амбулаторное обследование.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Исследование выполнено в рамках государственного задания № АААА-А18-118012290427-7.

Соответствие принципам этики. Всеми пациентами было подписано информированное согласие на участие в данном исследовании.

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

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией. Наибольший вклад распределен следующим образом: *Д.И. Козлова, Д.С. Васильев, М.Ф. Баллюзек* — идея работы и планирование экспериментов; *Л.В. Аносова, С.С. Беневоленская, А.А. Королькова* — обследование пациентов исследуемых групп, сбор биологического материала пациентов, включенных в исследование; *Д.И. Козлова, В.В. Хижа, А.В. Рыбаков, К.А. Юрьева, М.Е. Шевалдина* — определение активности изоформ исследуемого фермента в плазме крови пациентов исследуемых групп;

Д.С. Васильев, В.В. Хижа, А.В. Рыбаков — обработка данных; Д.И. Козлова, Д.С. Васильев, В.В. Хижа — написание и редактирование текста статьи.

Additional information

Funding source. The study was carried out within the framework of the state assignment No. АААА-А18-118012290427-7.

Ethics approval. All patients signed informed consent to participate in this study.

Competing interests. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Authors' contribution. All authors have made a significant contribution to the development of the concept and preparation of the article, read and approved the final version before publication. The largest contribution is distributed as follows: *D.I. Kozlova, D.S. Vasilyev, M.F. Ballyzek* — idea of work and planning of experiments; *L.V. Anosova, S.S. Benevolenskaya, A.A. Korolkova* — examination of patients of the study groups, collection of biological material from patients included in the study; *D.I. Kozlova, V.V. Khizha, A.V. Rybakov, K.A. Yureva, M.E. Shevaldina* — determination of the activity of isoforms of the enzyme under study in the blood plasma of patients of the studied groups; *D.S. Vasilev, V.V. Khizha, A.V. Rybakov* — data processing; *D.I. Kozlova, D.S. Vasilyev, V.V. Khizha* — writing and editing the manuscript.

Список литературы

1. Дедов И.И., Шестакова М.В., Викулова О.К. и др. Эпидемиологические характеристики сахарного диабета в Российской Федерации: клинико-статистический анализ по данным регистра сахарного диабета на 01.01.2021 // Сахарный диабет. 2021. Т. 24, № 3. С. 204–221. DOI: 10.14341/DM12759
2. Alessandri C., Conti F., Conigliaro P. et al. Seronegative autoimmune diseases // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2009, Vol. 1173, No. 1. P. 52–59. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2009.04806.x
3. Borovikova L.V., Ivanova S., Zhang M. et al. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin // *Nature*. 2000. Vol. 405, No. 6785. P. 458–462. DOI: 10.1038/35013070
4. Chasset F., Richez C., Martin T. et al. Rare diseases that mimic Systemic Lupus Erythematosus (Lupus mimickers) // *Joint Bone Spine*. 2019. Vol. 86, No. 2. P. 165–171. DOI: 10.1016/j.jbspin.2018.10.007
5. Marks M., Marks J.L. Viral arthritis // *Clin. Med. (Lond)*. 2016. Vol. 16, No. 2. P. 129–134. DOI: 10.7861/clinmedicine.16-2-129
6. Lockridge O. Review of human butyrylcholinesterase structure, function, genetic variants, history of use in the clinic, and potential therapeutic uses // *Pharmacol. Ther.* 2015. Vol. 148. P. 34–46. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2014.11.011
7. Masson P., Lockridge O. Butyrylcholinesterase for protection from organophosphorus poisons: catalytic complexities and

- hysteretic behavior // *Arch. Biochem. Biophys.* 2010. Vol. 494, No. 2. P. 107–120. DOI: 10.1016/j.abb.2009.12.005
8. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Герасимов Г.А. и др. Клинические рекомендации Российской ассоциации эндокринологов по диагностике и лечению аутоиммунного тиреоидита у взрослых // *Проблемы Эндокринологии*. 2003. Т. 49, № 6. С. 50. DOI: 10.14341/probl11777
 9. Дедов И.И., Шестакова М.В., Майоров А.Ю. и др. Сахарный диабет 1-го типа у взрослых // *Сахарный диабет*. 2020. Т. 23, № 1S. С. 42–114. DOI: 10.14341/DM12505
 10. Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V.Jr., Feather-Stone R.M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity // *Biochem. Pharmacol.* 1961. Vol. 7, No. 2. P. 88–95. DOI: 10.1016/0006-2952(61)90145-9
 11. Патент РФ на изобретение № 2018000042/04.03.2018. Васильев Д.С., Козлова Д.И., Попов А.В. Способ дифференциальной диагностики ранней или выраженной стадии ревматоидного артрита с остеоартритом.
 12. Wessler I., Kirkpatrick C.J. Acetylcholine beyond neurons: the non-neuronal cholinergic system in humans // *Br. J. Pharmacol.* 2008. Vol. 154, No. 8. P. 1558–1571. DOI: 10.1038/bjp.2008.185
 13. Das U.N. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase as possible markers of low-grade systemic inflammation // *Med. Sci. Monit.* 2007. Vol. 13, No. 12. P. RA214–221. DOI: 10.1016/S1665-2681(19)30940-8
 14. Grando S.A., Kawashima K., Wessler I. Introduction: the non-neuronal cholinergic system in humans // *Life Sci.* 2003. Vol. 72. P. 2009–2012. DOI: 10.1016/s0024-3205(03)00063-8
 15. Hofer S., Eisenbach C., Lukic I.K. et al. Pharmacologic cholinesterase inhibition improves survival in experimental sepsis // *Crit. Care Med.* 2008. Vol. 36, No. 2. P. 404–408. DOI: 10.1097/01.CCM.0B013E31816208B3
 16. Kawashima K., Fujii T. The lymphocytic cholinergic system and its contribution to the regulation of immune activity // *Life Sci.* 2003. Vol. 74, No. 6. P. 675–696. DOI: 10.1016/j.lfs.2003.09.037
 17. Козлова Д.И., Попов А.В., Васильев Д.С. и др. Псевдохолинэстераза плазмы крови как перспективный биомаркер аутоиммунных заболеваний // *Биоорганическая химия*. 2018. Т. 44, № 2. С. 158–162. DOI: 10.1134/S106816201802005X
 18. Darvesh S., LeBlanc A.M., Macdonald I.R. et al. Butyrylcholinesterase activity in multiple sclerosis neuropathology // *Chem. Biol. Interact.* 2010. Vol. 187, No. (1–3). P. 425–431. DOI: 10.1016/j.cbi.2010.01.037

References

1. Dedov II, Shestakova MV, Vikulova OK, et al. Epidemiological characteristics of diabetes mellitus in the Russian Federation: clinical and statistical analysis according to the Federal diabetes register data of 01.01.2021. *Diabetes mellitus*. 2021;24(3):204–221. (In Russ.) DOI: 10.14341/DM12759
2. Alessandri C, Conti F, Conigliaro P, et al. Seronegative autoimmune diseases. *Ann NY Acad Sci*. 2009;1173(1):52–59. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2009.04806.x
3. Borovikova LV, Ivanova S, Zhang M, et al. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature*. 2000;405(6785):458–462. DOI: 10.1038/35013070

4. Chasset F, Richez C, Martin T, et al. Rare diseases that mimic Systemic Lupus Erythematosus (Lupus mimickers). *Joint Bone Spine*. 2019;86(2):165–171. DOI: 10.1016/j.jbspin.2018.10.007
5. Marks M, Marks JL. Viral arthritis. *Clin Med (Lond)*. 2016;16(2):129–134. DOI: 10.7861/clinmedicine.16-2-129
6. Lockridge O. Review of human butyrylcholinesterase structure, function, genetic variants, history of use in the clinic, and potential therapeutic uses. *Pharmacol Ther*. 2015;148:34–46. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2014.11.011
7. Masson P., Lockridge O. Butyrylcholinesterase for protection from organophosphorus poisons: catalytic complexities and hysteretic behavior. *Arch Biochem Biophys*. 2010. Vol. 494, No. 2. P. 107–120. DOI: 10.1016/j.abb.2009.12.005
8. Dedov II, Melnichenko GA, Gerasimov GA, et al. Clinical recommendations of the Russian Association of Endocrinologists for the diagnosis and treatment of autoimmune thyroiditis in adults. *Problems of Endocrinology*. 2003;49(6):50. (In Russ.) DOI: 10.14341/probl11777
9. Dedov II, Shestakova MV, Mayorov AY, et al. Diabetes mellitus type 1 in adults. *Diabetes mellitus*. 2020;23(1S):42–114. (In Russ.) DOI: 10.14341/DM12505
10. Ellman GL, Courtney KD, Andres V Jr, Feather-Stone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol*. 1961;7(2):88–95. DOI: 10.1016/0006-2952(61)90145-9
11. Patent RUS No. 2018000042/04.03.2018. Vasilev DS, Kozlova DI, Popov AV. Method for differential diagnosis of early or severe stage of rheumatoid arthritis with osteoarthritis. (In Russ.)
12. Wessler I, Kirkpatrick CJ. Acetylcholine beyond neurons: the non-neuronal cholinergic system in humans. *Br J Pharmacol*. 2008;154(8):1558–1571. DOI: 10.1038/bjp.2008.185
13. Das UN. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase as possible markers of low-grade systemic inflammation *Med Sci Monit*. 2007;13(12):RA214–221. DOI: 10.1016/S1665-2681(19)30940-8
14. Grando SA, Kawashima K, Wessler I. Introduction: the non-neuronal cholinergic system in humans. *Life Sci*. 2003;72:2009–2012. DOI: 10.1016/s0024-3205(03)00063-8
15. Hofer S, Eisenbach C, Lukic IK, et al. Pharmacologic cholinesterase inhibition improves survival in experimental sepsis. *Crit Care Med*. 2008;36(2):404–408. DOI: 10.1097/01.CCM.0B013E31816208B3
16. Kawashima K, Fujii T. The lymphocytic cholinergic system and its contribution to the regulation of immune activity. *Life Sci*. 2003;74(6):675–696. DOI: 10.1016/j.lfs.2003.09.037
17. Kozlova DI, Popov AV, Vasilev DS, et al. Blood plasma pseudo-cholinesterase as a potential biomarker of autoimmune diseases. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2018;44(2):173–177. DOI: 10.1134/S106816201802005X
18. Darvesh S, LeBlanc AM, Macdonald IR, et al. Butyrylcholinesterase activity in multiple sclerosis neuropathology. *Chem Biol Interact*. 2010;187(1–3):425–431. DOI: 10.1016/j.cbi.2010.01.037

Информация об авторах / Information about the authors

ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова» Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia

Дарья Игоревна Козлова — канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории сравнительной физиологии и патологии ЦНС. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1767-2754>; Scopus Author ID: 56998634500; ResearcherID: Q-1916-2017; eLibrary SPIN: 2041-5544; e-mail: di.kozlova.official@gmail.com

Виталий Валентинович Хижжа — младший научный сотрудник лаборатории сравнительной физиологии и патологии ЦНС. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4967-472X>; e-mail: khizhaspb@gmail.com

Дмитрий Сергеевич Васильев — канд. биол. наук, заведующий лабораторией сравнительной физиологии и патологии ЦНС. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0601-2358>; Scopus Author ID: 42162286800; ResearcherID: J-8198-2018; eLibrary SPIN: 3752-5516; e-mail: dvasilyev@bk.ru

ФГБУ «Научно-исследовательский институт уха, горла, носа и речи», Санкт-Петербург, Россия
St.-Petersburg Scientific Research Institute of Ear, Nose, Throat and Speech, Saint Petersburg, Russia

Людмила Владимировна Аносова — врач-невролог. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3796-7616>; e-mail: anosova.ludmila@yandex.ru

Daria I. Kozlova — Cand. Sci. (Biol.), Senior Research Associate of the Laboratory of the Comparative Physiology and Pathology of the CNS. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1767-2754>; Scopus Author ID: 56998634500; ResearcherID: Q-1916-2017; eLibrary SPIN: 2041-5544; e-mail: di.kozlova.official@gmail.com

Vitaliy V. Khizha — Junior Research Associate of the Laboratory of the Comparative Physiology and Pathology of the CNS. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4967-472X>; e-mail: khizhaspb@gmail.com

Dmitrii S. Vasilev — Cand. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of the Comparative Physiology and Pathology of the CNS. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0601-2358>; Scopus Author ID: 42162286800; ResearcherID: J-8198-2018; eLibrary SPIN: 3752-5516; e-mail: dvasilyev@bk.ru

Lyudmila V. Anosova — Neurologist. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3796-7616>; e-mail: anosova.ludmila@yandex.ru

Информация об авторах / Information about the authors

ФГОУ ВПО «Сыктывкарский государственный университет имени Питирима Сорокина», Сыктывкар, Россия
Pitirim Sorokin Syktyvkar State University, Syktyvkar, Russia

Анастасия Александровна Королькова —
старший преподаватель кафедры терапии.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2159-1685>;
e-mail: ana9099588@yandex.ru

Anastasia A. Korolkova — Senior Lecturer
of the Department of the Therapy.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2159-1685>;
e-mail: ana9099588@yandex.ru

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова», Санкт-Петербург, Россия
Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

Станислава Сергеевна Беневоленская — врач-ревматолог
консультативно-диагностического отделения.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9817-1750>;
eLibrary SPIN: 5521-3197; e-mail: stsebe@mail.ru

Stanislava S. Benevolenskaya — Rheumatologist of the
Consultative and Diagnostic Department.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9817-1750>;
eLibrary SPIN: 5521-3197; e-mail: stsebe@mail.ru

ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», Санкт-Петербург, Россия
Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, Saint Petersburg, Russia

Арсений Валентинович Рыбаков — студент.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8867-0161>;
eLibrary SPIN: 9920-9315; e-mail: aribakoff@gmail.com

Arseny V. Rybakov — Student.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8867-0161>;
eLibrary SPIN: 9920-9315; e-mail: aribakoff@gmail.com

Мария Евгеньевна Шевалдина — студентка.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9388-9886>;
e-mail: mashasheval@gmail.com

Mariia E. Shevaldina — Student.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9388-9886>;
e-mail: mashasheval@gmail.com

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия
Saint-Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

Карина Андреевна Юрьева — студентка.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5225-3726>;
e-mail: st068449@student.spbu.ru

Karina A. Yureva — Student.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5225-3726>;
e-mail: st068449@student.spbu.ru

Санкт-Петербургская клиническая больница Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия
St. Petersburg Clinical Hospital of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia

Марина Феликсовна Баллызек — д-р мед. наук,
профессор, врач-кардиолог, заместитель главного врача
по медицинской части, заведующий
кардиологическим отделением.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3223-0241>;
Scopus Author ID: 55941807600;
eLibrary SPIN: 2588-3944;
e-mail: marina.ballyzek@mail.ru

Marina F. Ballyzek — MD, Dr. Sci. (Med.),
Cardiologist, Professor, Deputy Chief Physician
for a Medical Part, Head of Cardiological Department.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3223-0241>;
Scopus Author ID: 55941807600;
eLibrary SPIN: 2588-3944;
e-mail: marina.ballyzek@mail.ru

✉ Контактное лицо / Corresponding author

Дарья Игоревна Козлова / Daria I. Kozlova

Адрес: Россия, 194223, Санкт-Петербург, пр. Тореза, д. 44
Address: 44 Thorez Ave., Saint Petersburg, 194223, Russia
E-mail: di.kozlova.official@gmail.com