

ИЗВѢСТІЯ РОССІЙСКОЙ ВОЕННО-МЕДИЦИНСКОЙ АКАДЕМІИ



Russian Military Medical Academy Reports

ОСНОВАН В 1900
SINCE

ISSN 2713-2315 (Print)

ISSN 2713-2323 (Online)



TOM
VOLUME XLI

НОМЕР
ISSUE 3

2022

УЧРЕДИТЕЛИ

- Военно-медицинская академия
- ООО «Эко-Вектор»

ИЗДАТЕЛЬ

ООО «Эко-Вектор»

Адрес: 191186, г. Санкт-Петербург,
Аптекарский переулок, д. 3, литера А,
помещение 1Н
e-mail: info@eco-vector.com
WEB: <https://eco-vector.com>

РЕДАКЦИЯ

Адрес: 194044, Санкт-Петербург,
ул. Академика Лебедева, д. 6, литера Ж
тел.: +7(812) 292-34-84
факс: +7(812) 329-71-18
e-mail: izvestiavmeda@mail.ru
<https://journals.eco-vector.com/RMMArep>
Журнал зарегистрирован Федеральной службой
по надзору в сфере связи, информационных
технологий и массовых коммуникаций
ПИ № ФС 77-77760 от 10.02.2020 г.
Выходит 4 раза в год

ПОДПИСКА

Подписка на печатную версию:
Объединенный каталог «Пресса России»
<https://www.ppressa-rf.ru>
подписной индекс
81571 — на полугодие
81561 — на год

OPEN ACCESS

В электронном виде журнал
распространяется бесплатно — в режиме
немедленного открытого доступа

ИНДЕКСАЦИЯ

- РИНЦ
- Google Scholar
- Ulrich's Periodicals Directory

Оригинал-макет изготовлен
ООО «Эко-Вектор».
Ген. директор: Е.В. Щепин
Выпускающий редактор: Н.Н. Репьева
Верстка: В.А. Еленин
Формат 60 × 90¹/₈. Усл.-печ. л. 14.
Тираж 500 экз. Цена свободная

ООО «Типография Экспресс В2В».
191180, Санкт-Петербург,
наб. реки Фонтанки,
д. 104, лит. А, пом. 3Н, оф. 1.
Тел.: +7(812) 646-33-77. Заказ 2-7042-lv.
Подписано в печать 30.09.2022
Выход в свет 17.10.2022

© ООО «Эко-Вектор», 2022



Главный редактор

Евгений Владимирович Крюков, академик РАН, докт. мед. наук, профессор,
Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия)

Заместители главного редактора

Е.В. Ивченко, докт. мед. наук, доцент, Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия)
В.Н. Цыган, докт. мед. наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, Военно-медицинская академия
им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия)

Выпускающий редактор

А.Е. Коровин, докт. мед. наук, доцент, Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия)

Редакционная коллегия

В.Г. Акимкин, академик РАН, докт. мед. наук, профессор, Центральный научно-исследовательский институт
эпидемиологии Роспотребнадзора (Москва, Россия)
С.С. Багненко, докт. мед. наук, доцент, Национальный медицинский исследовательский центр онкологии
им. Н.Н. Петрова (Санкт-Петербург, Россия)
В.Ф. Беженарь, докт. мед. наук, профессор, Первый Санкт-Петербургский государственный университет
им. акад. И.П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия)
А.Н. Бельский, член-корреспондент РАН, докт. мед. наук, профессор, Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова
(Санкт-Петербург, Россия)
И.В. Бойков, докт. мед. наук, профессор, Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия)
Е.Б. Брусина, член-корреспондент РАН, докт. мед. наук, профессор, Кемеровский государственный медицинский
университет (Кемерово, Россия)
А.А. Будко, докт. мед. наук, профессор, Военно-медицинский музей (Санкт-Петербург, Россия)
Р.В. Деев, канд. мед. наук, доцент, Северо-Западный государственный медицинский университет
им. И.И. Мечникова (Санкт-Петербург, Россия)
И.С. Железняк, докт. мед. наук, профессор, Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия)
И.С. Захаров, докт. мед. наук, Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия)
М.В. Захаров, канд. мед. наук, доцент, Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия)
С.Н. Иллариошкин, академик РАН, докт. мед. наук, профессор, Научный центр неврологии (Санкт-Петербург, Россия)
А.В. Карташев, докт. исторических наук, доцент, Ставропольский государственный медицинский университет (Ставрополь, Россия)
Е.Ф. Кира, докт. мед. наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, заслуженный врач РФ,
Группа компаний «МЕДСИ» (Москва, Россия)
О.В. Ковалишина, докт. мед. наук, доцент, Приволжский исследовательский медицинский университет
(Нижний Новгород, Россия)
А.В. Козлов, канд. мед. наук, докт. педагог. наук, профессор, заслуженный работник высшей школы РФ,
Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия)
Б.Н. Котлов, докт. мед. наук, профессор, заслуженный врач РФ, Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова
(Санкт-Петербург, Россия)
П.Е. Крайнюков, докт. мед. наук, канд. военных наук, доцент, Центральный военный клинический госпиталь
им. П.В. Мандрыка (Москва, Россия)
А.А. Кузин, докт. мед. наук, доцент, Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия)
М.В. Лазуткин, докт. мед. наук, доцент, Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия)
Д.С. Лебедев, профессор РАН, докт. мед. наук, заслуженный деятель науки РФ, Национальный медицинский
исследовательский центр им. В.А. Алмазова (Санкт-Петербург, Россия)
И.В. Литвиненко, докт. мед. наук, профессор, Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия)
Р.Г. Макеев, докт. мед. наук, доцент, Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия)
Ю.В. Мирошниченко, докт. фармацевтических наук, профессор, заслуженный работник здравоохранения РФ,
Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия)
О.А. Нагибович, докт. мед. наук, доцент, Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия)
А.О. Недошвин, докт. мед. наук, профессор, Национальный медицинский исследовательский центр
им. В.А. Алмазова (Санкт-Петербург, Россия)
Д.В. Овчинников, канд. мед. наук, доцент, Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия)
М.М. Одинак, член-корреспондент РАН, докт. мед. наук, профессор, заслуженный врач РФ, Военно-медицинская
академия им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия)
И.А. Одинцова, докт. мед. наук, профессор, Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия)
К.А. Пашков, профессор РАН, докт. мед. наук, профессор, Московский государственный медико-стоматологический
университет им. А.И. Евдокимова (Москва, Россия)
Н.В. Полунина, академик РАН, докт. мед. наук, профессор, Российский национальный исследовательский медицинский
университет им. Н.И. Пирогова (Москва, Россия)
С.Н. Лузин, академик РАН, докт. мед. наук, профессор, Федеральный научно-клинический центр реаниматологии
и реабилитологии (Москва, Россия)
С.В. Сазонов, докт. мед. наук, профессор, Уральский государственный медицинский университет (Екатеринбург, Россия)
Е.И. Саканян, докт. фармацевтических наук, профессор, Центр фармакопей и международного сотрудничества
Научный центр экспертизы средств медицинского применения (Москва, Россия)
А.Б. Селезнев, канд. мед. наук, доцент, Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной
медицины (Санкт-Петербург, Россия)
А.И. Соловьев, докт. мед. наук, профессор, Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия)
Н.Д. Ушакова, докт. мед. наук, профессор, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт (Ростов-на-Дону, Россия)
А.Я. Фисун, член-корреспондент РАН, докт. мед. наук, профессор, Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова,
филиал (Москва, Россия)
Ю.Р. Ханкевич, докт. мед. наук, войсковая часть (Санкт-Петербург, Россия)
Д.В. Черкашин, докт. мед. наук, профессор, Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия)
В.С. Чирский, докт. мед. наук, профессор, Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия)
М.А. Шаповалова, докт. мед. наук, Астраханский государственный медицинский университет (Астрахань, Россия)
А.М. Шелепов, докт. мед. наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, Военно-медицинская академия
им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия)
Д.Л. Шукевич, докт. мед. наук, профессор, Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-
сосудистых заболеваний (Кемерово, Россия)
Р.И. Язудина, докт. фармацевтических наук, профессор, Первый Московский государственный медицинский
университет им. И.М. Сеченова (Москва, Россия)

Отв. секретарь

Т.И. Копыленкова, Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия)

Редакция не несет ответственности за содержание рекламных материалов. Точка зрения авторов может не совпадать с мнением
редакции. К публикации принимаются только статьи, подготовленные в соответствии с правилами для авторов. Направляя
статью в редакцию, авторы принимают условия договора публичной оферты. С правилами для авторов и договором публичной
оферты можно ознакомиться на сайте: <https://journals.eco-vector.com/RMMArep>. Полное или частичное воспроизведение мате-
риалов, опубликованных в журнале, допускается только с письменного разрешения издателя — издательства «Эко-Вектор».

Russian Military Medical Academy Reports

2022 Volume 41 Issue 3

<https://journals.eco-vector.com/RMMArep>

FOUNDERS

- Russian Military Medical Academy
- Eco-Vector

PUBLISHER

Address:

3A, Aptekarskiy lane, office 1N,
Saint Petersburg, 191186, Russia

Tel: +7(812)648-83-60,

FAX: +7(812)312-45-72

e-mail: nl@eco-vector.com

<https://journals.eco-vector.com>

EDITORIAL

Address:

6Zh, Akademika Lebedeva str.,
Saint Petersburg, 194044, Russia

Tel: +7(812)292-34-84,

FAX: +7(812)329-71-18

e-mail: izvestiamedia@mail.ru

<https://journals.eco-vector.com/RMMArep>

Published 4 times a year

INDEXATION

- Russian Science Citation Index
- Google Scholar
- Ulrich's Periodicals Directory

Reference to

Russian Military Medical Academy Reports
is mandatory

Editor-in-Chief

E.V. Kryukov, Academician of the RAS, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, S.M. Kirov Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia)

Deputy Editors-in-Chief

E.V. Ivchenko, M.D., D.Sc. (Medicine), Associate Professor, S.M. Kirov Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia)

V.N. Tsygan, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, Honored Scientist of the Russian Federation,

S.M. Kirov Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia)

Issuer editor

A.E. Korovin, M.D., D.Sc. (Medicine), Associate Professor, S.M. Kirov Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia)

Editorial board

V.G. Akimkin, Corresponding Member of the RAS, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, Central Research Institute of Epidemiology (Moscow, Russia)

S.S. Bagnenko, M.D., D.Sc. (Medicine), Associate Professor, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (Saint Petersburg, Russia)

V.F. Bezhenar, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, Pavlov First St. Petersburg State University (Saint Petersburg, Russia)

A.N. Bel'skikh, Corresponding Member of the RAS, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, S.M. Kirov Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia)

I.V. Boykov, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, S.M. Kirov Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia)

E.B. Brusina, Corresponding Member of the RAS, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, Kemerovo State Medical University (Kemerovo, Russia)

A.A. Budko, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, Military Medical Museum (Saint Petersburg, Russia)

R.V. Deev, M.D., Ph.D. (Medicine), Associate Professor, I.I. Mechnikov North-West State Medical University (Saint Petersburg, Russia)

I.S. Zakharov, M.D., D.Sc. (Medicine), S.M. Kirov Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia)

M.V. Zakharov, M.D., Ph.D. (Medicine), Associate Professor, S.M. Kirov Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia)

I.S. Zheleznyak, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, S.M. Kirov Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia)

S.N. Illarionov, Academician of the RAS, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, Scientific Center of Neurology (Saint Petersburg, Russia)

A.V. Kartashev, D.Sc. (History), Associate Professor, Stavropol State Medical University (Stavropol, Russia)

E.F. Kira, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, Honored Scientist of the Russian Federation, Honored Doctor of the Russian Federation, MEDSI Group of Companies (Moscow, Russia)

B.N. Kotiv, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, Honored Doctor of the RF, S.M. Kirov Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia)

O.V. Kovalishena, M.D., D.Sc. (Medicine), Associate Professor, Privolzhsky Research Medical University (Nizhny Novgorod, Russia)

A.V. Kozlov, M.D., Ph.D. (Medicine), D.Sc. (Pedagogical), Professor, S.M. Kirov Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia)

P.E. Kravnyukov, M.D., D.Sc. (Medicine), Associate Professor, Ph.D. (Military), P.V. Mandryk Central Military Clinical Hospital (Moscow, Russia)

A.A. Kuzin, M.D., D.Sc. (Medicine), Associate Professor, S.M. Kirov Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia)

M.V. Lazutkin, M.D., D.Sc. (Medicine), Associate Professor, S.M. Kirov Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia)

D.S. Lebedev, Professor of the RAS, M.D., D.Sc. (Medicine), V.A. Almazov National Medical Research Center (Saint Petersburg, Russia)

I.V. Litvinenko, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, S.M. Kirov Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia)

R.G. Makijev, M.D., D.Sc. (Medicine), Associate Professor, S.M. Kirov Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia)

Yu.V. Miroshnichenko, M.D., D.Sc. (Pharmaceuticals), Professor, Honored Health Worker of the Russian Federation,

S.M. Kirov Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia)

O.A. Nagibovich, M.D., D.Sc. (Medicine), Associate Professor, S.M. Kirov Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia)

A.O. Nedoshivin, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, V.A. Almazov National Medical Research Center (Saint Petersburg, Russia)

D.V. Ovchinnikov, M.D., Ph.D. (Medicine), Associate Professor, S.M. Kirov Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia)

M.M. Odinak, Corresponding Member of the RAS, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, Honored Doctor of the RF,

S.M. Kirov Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia)

I.A. Odintsova, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, S.M. Kirov Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia)

K.A. Pashkov, Professor of the RAS, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry (Moscow, Russia)

N.V. Polunina, academician RAS, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, N.I. Pirogov National medical surgical Center (Moscow, Russia)

S.N. Puzin, academician RAS, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Reabilitology (Moscow, Russia)

S.V. Sazonov, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, Ural State Medical University (Yekaterinburg, Russia)

E.I. Sakanyan, M.D., D.Sc. (Pharmaceuticals), Professor, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

A.B. Seleznev, M.D., Ph.D. (Medicine), Associate Professor, State Scientific Research Test Institute of the Military Medicine (Saint Petersburg, Russia)

A.I. Solov'yov, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, S.M. Kirov Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia)

N.D. Ushakova, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia)

A.Ya. Fisun, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, Corresponding Member of the RAS, S.M. Kirov Military Medical Academy, branch (Moscow, Russia)

Yu.R. Khankevich, M.D., Ph.D. (Medicine), Military Unit (Saint Petersburg, Russia)

D.V. Cherkashin, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, S.M. Kirov Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia)

V.S. Chirskiy, Professor, S.M. Kirov Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia)

M.A. Shapovalova, M.D., D.Sc. (Medicine), Astrakhan State Medical University (Astrakhan, Russia)

A.M. Shelepov, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, Honored Scientist of Russia, S.M. Kirov Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia)

D.L. Shukevich, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (Kemerovo, Russia)

R.I. Yagudina, M.D., D.Sc. (Pharmaceuticals), Professor, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Russia Health Ministry (Moscow, Russia)

Executive Secretary

T.I. Kopylenkova, S.M. Kirov Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia)

The editors are not responsible for the content of advertising materials. The point of view of the authors may not coincide with the opinion of the editors. Only articles prepared in accordance with the guidelines are accepted for publication. By sending the article to the editor, the authors accept the terms of the public offer agreement. The guidelines for authors and the public offer agreement can be found on the website: <https://journals.eco-vector.com/RMMArep>. Full or partial reproduction of materials published in the journal is allowed only with the written permission of the publisher – the Eco-Vector publishing house.



СОДЕРЖАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

<i>Д.В. Ковлен, Г.Р. Абушева, С.С. Хозяинова, Е.Ф. Кондрина, Л.А. Подберезкина, В.Н. Ищук, Т.Н. Карпова, И.В. Коноплянкин, А.С. Ковалев, С.В. Толмачев</i>	
Реабилитация пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию COVID-19, на втором и третьем этапах	243
<i>К.В. Жданов, К.В. Козлов, О.В. Мальцев, П.И. Миклуш, В.В. Шарабханов, К.В. Касьяненко, В.В. Гордиенко, И.М. Юркаев</i>	
Борьба с инфекцией, вызванной SARS-CoV-2: опыт и перспективы	251
<i>М.В. Волкова, В.В. Бояринцев, А.В. Трофименко, С.П. Рыбалкин, Е.В. Ковалева, С.А. Бирюков, Г.И. Фильков, М.О. Дурыманов</i>	
Эффективность применения мезенхимальных стромальных клеток для лечения рвано-ушибленных ран в условиях гипотермии и гипоксии	261
<i>А.П. Овчаренко, Р.Н. Лемешкин</i>	
Анализ деятельности нештатных формирований Службы медицины катастроф Министерства обороны Российской Федерации при ликвидации медико-санитарных последствий чрезвычайных ситуаций и пути ее совершенствования	269
<i>Е.А. Чернявский, Н.В. Зеленина, В.В. Юсупов, А.В. Григоров</i>	
Использование современных психофизиологических аппаратно-программных комплексов в прогнозировании устойчивости к боевому стрессу	277
<i>В.Е. Чернов, М.О. Соколова, А.К. Иванова, А.С. Бунтовская, Е.И. Корешова, А.Е. Трандина, А.С. Фрумкина, О.Н. Харкевич</i>	
Получение и культивирование мультипотентных мезенхимальных клеток стромы пуповины человека в лабораторном эксперименте	283
<i>Е.С. Орлова, Ю.И. Буланьков, А.А. Сечин</i>	
Направления совершенствования лабораторной диагностики социально значимых гемоконтактных вирусных инфекций в военно-медицинских организациях	293
<i>Е.В. Панферов, Н.И. Тапильская, К.С. Масиева, К.В. Объедкова, А.М. Гзгзян</i>	
Митохондриальные сети клеток кумулюса и качество ооцитов	303

НАУЧНЫЕ ОБЗОРЫ

<i>В.В. Хоминец, К.А. Воробьев, М.О. Соколова, А.К. Иванова, А.В. Комаров</i>	
Аллогенные остеопластические материалы для реконструктивной хирургии боевых травм	309
<i>О.И. Савушкина, А.А. Зайцев, Е.В. Крюков, А.В. Черняк, М.М. Малашенко, И.Ц. Кулагина, С.А. Чернов, Н.А. Асеева</i>	
Функциональные нарушения системы дыхания после перенесенной новой коронавирусной инфекции	315
<i>С.А. Пелешок, К.П. Головки</i>	
3D-печать и медицина	325
<i>В.И. Легеза, Н.В. Аксенова, Е.В. Мурзина, Н.В. Пак, О.М. Веселова</i>	
Перспективы применения клеточной терапии для лечения костномозговой формы острой лучевой болезни	335

ДИСКУССИИ

<i>А.А. Зайцев, А.М. Макаревич</i>	
COVID-19 и антимикробная терапия	345

CONTENTS

ORIGINAL ARTICLES

- D.V. Kovlen, G.R. Abuseva, S.S. Khozyainova, E.F. Kondrina, L.A. Podberezkina, V.N. Ischuk, T.N. Karpova, I.V. Konoplyankin, A.S. Kovalev, S.V. Tolmachev*
Rehabilitation of patients after a new coronavirus infection COVID-19 at the second and third stage 243
- K.V. Zhdanov, K.V. Kozlov, O.V. Mal'tsev, P.I. Miklush, V.V. Sharabkhanov, K.V. Kasyanenko, V.V. Gordienko, I.M. Yurkaev*
Fighting SARS-CoV-2 infection: experience and prospects 251
- M.V. Volkova, V.V. Boyarintsev, A.V. Trofimenko, S.P. Rybalkin, E.V. Kovaleva, S.A. Biryukov, G.I. Filkov, M.O. Durymanov*
The effectiveness of the use of mesenchymal stromal cells for the treatment of lacerated wounds under conditions of hypothermia and hypoxia 261
- A.P. Ovcharenko, R.N. Lemeskin*
Analysis of the activities of non-staff units of the Disaster Medicine Service of the Ministry of Defense of the Russian Federation in the liquidation of the medical and sanitary consequences of emergencies and ways to improve it 269
- E.A. Chernyavskiy, N.V. Zelenina, V.V. Yusupov, A.V. Grigorov*
The application of modern psychophysiological hardware and software complexes in prediction of resistance to combat psychological stress 277
- V.E. Chernov, M.O. Sokolova, A.K. Ivanova, A.S. Buntovskaya, E.I. Koreshova, A.E. Trandina, A.S. Frumkina, O.N. Kharkevich*
Initiation and cultivation of multipotent mesenchymal human umbilical stroma cells in a laboratory experiment 283
- E.S. Orlova, Yu.I. Bulan'kov, A.A. Sechin*
Directions of the laboratory diagnostics improving of the socially significant hemocontact viral infections in the military medical organizations. 293
- E.V. Panferov, N.I. Tapilskaya, K.S. Masieva, K.V. Ob'edkova, A.M. Gzgzyan*
Mitochondrial networks of cumulus cells and oocyte quality 303

SCIENTIFIC REVIEWS

- V.V. Khominets, K.A. Vorobev, M.O. Sokolova, A.K. Ivanova, A.V. Komarov*
Allogeneic osteoplastic materials for reconstructive surgery of combat injuries 309
- O.I. Savushkina, A.A. Zaicev, E.V. Kryukov, A.V. Chernyak, M.M. Malashenko, I.Ts. Kulagina, S.A. Chernov, N.A. Aseeva*
Functional disorders of the respiratory system after a new coronavirus infection COVID-19 315
- S.A. Peleshok, K.P. Golovko*
3D printing and medicine 325
- V.I. Legeza, N.V. Aksenova, E.V. Murzina, N.V. Pak, O.M. Veselova*
Prospects of cell therapy for hematopoietic syndrome of acute radiation sickness 335

DISCUSSIONS

- A.A. Zaicev, A.M. Makarevich*
COVID-19 and antimicrobial therapy 345

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar109250>

Research Article

Rehabilitation of patients after a new coronavirus infection COVID-19 at the second and third stage

Denis V. Kovlen¹, Gul'nara R. Abuseva^{1, 2}, Stella S. Khozyainova^{1, 2}, Elena F. Kondrina^{1, 2},
Liudmila A. Podberezkina¹, Vladimir N. Ischuk¹, Tamara N. Karpova¹, Ivan V. Konoplyankin¹,
Alexey S. Kovalev¹, Sergei V. Tolmachev¹

¹ Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia;

² I.I. Mechnikov North-West State Medical University, Saint Petersburg, Russia

BACKGROUND: Patients who have undergone a COVID-19 infection are in need of comprehensive rehabilitation, taking the polysyndromic manifestations of the post- COVID syndrome and comorbidities into account.

AIM: The purpose of this article is the need to evaluate the effectiveness of medical rehabilitation programs for patients who underwent a COVID-19 infection at the second and third stages of medical rehabilitation from the standpoint of evidence-based medicine.

MATERIALS AND METHODS: 330 medical rehabilitation programs for patients who had a COVID-19 infection were examined. All patients underwent functional tests: control of blood oxygen saturation (SpO₂), spirometry, Stange, and Gench tests, testing on the Borg exercise tolerance scale and the MRC dyspnea scale; the EQ-5D quality of life questionnaire was completed. Patients were divided into 2 representative groups (160 and 170 people). The average duration of treatment was 14 days. The methods of physical and rehabilitation medicine: therapeutic exercises, breathing exercises, and inhalation therapy were applied to the patients in the observation group. Patients in the observation group underwent rehabilitation treatment programs depending on comorbidities and severity of symptoms in organs and systems. The survey was conducted at 2 control points: 1 day (first), and 14 day (second).

RESULTS: The observation group showed significantly better recovery results ($p < 0.05$). The average values of the Stange and Gench samples showed a positive trend. There was an improvement in the subjective assessment of the tolerability of the 6-minute walk test on the Borg scale, a decrease in the severity of dyspnea on the MRC dyspnea scale, and an improvement in the quality of life on the EQ-5D scale.

CONCLUSION: The structure of the rehabilitation programs used in the clinic of medical rehabilitation and recovery treatment was analysed, showing positive results that have indicated the effectiveness of the methods of physical and rehabilitation medicine in patients with various manifestations of post-COVID syndrome.

Keywords: COVID-19; efficiency; medical rehabilitation; pathology; physical and rehabilitation medicine; post-COVID syndrome; rehabilitation treatment.

To cite this article:

Kovlen DV, Abuseva GR, Khozyainova SS, Kondrina EF, Podberezkina LA, Ischuk VN, Karpova TN, Konoplyankin IV, Kovalev AS, Tolmachev SV. Rehabilitation of patients after a new coronavirus infection COVID-19 at the second and third stage. *Russian Military Medical Academy Reports*. 2022;41(3):243–249. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar109250>

Received: 08.07.2022

Accepted: 14.07.2022

Published: 30.09.2022

УДК 616-008

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar109250>

Научная статья

Реабилитация пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию COVID-19, на втором и третьем этапах

Д.В. Ковлен¹, Г.Р. Абусева^{1, 2}, С.С. Хозяинова^{1, 2}, Е.Ф. Кондрина^{1, 2}, Л.А. Подберезкина¹,
В.Н. Ищук¹, Т.Н. Карпова¹, И.В. Коноплянкин¹, А.С. Ковалев¹, С.В. Толмачев¹

¹ Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия;

² Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

Актуальность. Пациенты, перенесшие новую коронавирусную инфекцию, нуждаются в комплексной реабилитации, учитывая полисиндромальные проявления постковидного синдрома и сопутствующую патологию.

Цель исследования — оценить эффективность программ медицинской реабилитации пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию COVID-19, на втором и третьем этапах этой реабилитации с позиции доказательной медицины.

Материалы и методы. Было обследовано 330 человек по программе медицинской реабилитации пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию. Всем им проводились функциональные пробы: контроль насыщения крови кислородом (SpO₂), спирометрия, пробы Штанге и Генча, тестирование по шкале переносимости физических нагрузок Борга и шкале одышки MRC, а также заполнялся опросник качества жизни EQ-5D. Пациенты были разделены на 2 репрезентативные группы (160 и 170 человек). Средняя продолжительность курса лечения составила 14 дней. В процессе реабилитации пациентов группы сравнения использовались методы физической и реабилитационной медицины: лечебная гимнастика, дыхательные упражнения, ингаляционная терапия, а пациентов группы наблюдения — программы восстановительного лечения в зависимости от сопутствующей патологии и выраженности симптомов со стороны органов и систем. Обследование проводилось по 2 контрольным точкам: 1 день (первая), 14 день (вторая).

Результаты. Группа наблюдения показала достоверно лучшие результаты восстановления ($p < 0,05$). Средние значения проб Штанге и Генча свидетельствовали о положительной динамике. Было отмечено улучшение качества жизни по шкале EQ-5D и субъективной оценки переносимости теста с 6-минутной ходьбой по шкале Борга, а также уменьшение выраженности одышки по шкале одышки MRC.

Заключение. Анализ структуры реабилитационных программ, применяемых в клинике медицинской реабилитации и восстановительного лечения, показал эффективность применения методов физической и реабилитационной медицины при лечении пациентов с различными проявлениями постковидного синдрома.

Ключевые слова: восстановительное лечение; медицинская реабилитация; новая коронавирусная инфекция COVID-19; патология; постковидный синдром; физическая и реабилитационная медицина; эффективность.

Как цитировать:

Ковлен Д.В., Абусева Г.Р., Хозяинова С.С., Кондрина Е.Ф., Подберезкина Л.А., Ищук В.Н., Карпова Т.Н., Коноплянкин И.В., Ковалев А.С., Толмачев С.В. Реабилитация пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию COVID-19, на втором и третьем этапах // Известия Российской Военно-медицинской академии. 2022. Т. 41. № 3. С. 243–249. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar109250>

BACKGROUND

Although the number of patients with acute coronavirus disease 2019 (COVID-19) worldwide is decreasing, the pandemic is still not under full control, and the post-COVID syndrome is a challenging problem because of the lack of systematization of multiorgan sequelae. Many patients (16%–87%) experience post-COVID syndrome, with pneumologic and neuropsychologic symptoms being the most frequent manifestations. Pulmonary fibrosis was the most common organ complication found in patients with post-COVID syndrome. The number of symptoms of acute COVID-19, disease severity, and high serum D-dimer levels have been associated with a high risk of post-COVID syndrome, which is listed in the International Classification of Diseases as U09.9 “Condition after COVID19 unspecified.” It can significantly affect the health status of surviving patients [1–3].

In general, the spectrum of clinical manifestations of both novel coronavirus infection (NCI) itself and post-COVID syndrome is extremely variable. In most cases, the respiratory system is affected; however, the most lasting effects are noted on the nervous system. The most frequent neuropsychiatric symptom was sleep disturbance (cumulative prevalence, 27.4% [95% confidence interval 21.4%–34.4%]), followed by fatigue (24.4% [17.5%–32.9%]), objective cognitive impairment (20.2% [10.3–35.7%]), anxiety (19.1% [13.3%–26.8%]), and post-traumatic stress (15.7% [9.9–24.1%]). Neuropsychiatric symptoms are common and persist in patients even after recovery from NCI. The literature on long-term sequelae is still growing; however, available data suggest a high prevalence of insomnia, fatigue, cognitive impairment, and anxiety disorders in the first 6 months after infection [4–6]. The number of patients with complaints of musculoskeletal pain after NCI was also increasing. Thus, in a systematic review consisting of a sample of 14,639 hospitalized and 11,070 nonhospitalized patients with NCI, the overall rates of postcoital myalgia, joint pain, and chest pain were 5.65%–18.15%, 4.6%–12.1%, and 7.8%–23.6%, respectively, at different follow-up periods (after 30, 60, 90, and ≥180 days) during the first year after infection. The time trend analysis showed a decrease in the prevalence of musculoskeletal pain after NCI from

symptom onset until day 30, increased after 60 days, and a second decrease after ≥180 days [7]. This makes it important to consider multidisciplinary rehabilitation programs in the follow-up of patients of working age. For 2021–2022, >3300 publications on the rehabilitation of patients with NCI, including 113 systematic reviews, have been deposited in the PubMed and Cochrane databases, with >1700 studies and 70 systematic reviews in 2022.

Owing to the large flow of patients with moderate, severe, and extremely severe NCI, physical and rehabilitative medicine in patients with post-COVID syndrome must be defined. On average, nearly one-third of NCI survivors were rehospitalized within the first 5 months after discharge and more than 1 in 10 died (4 and 8 times higher than in the general population). The rates are higher for persons aged >70 [8].

The study aimed to evaluate the effectiveness of medical rehabilitation programs for patients with NCI in the second and third stages of medical rehabilitation from the perspective of evidence-based medicine due to the large flow of people with post-COVID syndrome.

MATERIALS AND METHODS

Given the polysyndromal manifestations of chronic NCI, the development of rehabilitation programs should be based on a syndrome-pathogenetic approach. This approach is used in programs for patients with post-COVID syndrome at all rehabilitation stages in the medical rehabilitation and restorative treatment clinic of S.M. Kirov Military Medical Academy. From September 2020 to December 2021, 330 patients with NCI of varying severity levels were treated. Of these patients, 197 were in the medical rehabilitation clinic (second stage), and another 133 underwent rehabilitation on an outpatient basis (third stage). Patients in the second and third stages were evaluated using the rehabilitation routing scale SHRM2 score. They were divided into two representative groups: the observation group ($n = 170$) and the comparison group ($n = 160$).

Individual rehabilitation programs for the observation group were developed depending on the prevailing manifestations of post-COVID syndrome and taking into account evidence-based recommendations [9] (Table 1),

Table 1. Evidence-based rehabilitation techniques for patients with post-COVID syndrome

Main	Additional	Auxiliary
Physical exercise (1, A)	Continuous positive airway pressure (2, B)	Low-frequency magnetotherapy (3, B)
Breathing exercises (1, A)	High-intensity laser therapy (2, B)	Climatotherapy (3, B)
Inhalation therapy (1, A)	Therapeutic massage (3, B)	Oscillatory modulation of
Noninvasive ventilation (2, B)	Hydrokinesotherapy (2, B)	breathing (3, B)
	Neuromyostimulation (2, B)	Short-wave diathermy (3, B)

using the scale for assessing the severity of functional disorders in post-COVID syndrome [10].

The level of cogency of evidence and the validity of recommendations for specific treatment methods were weighted and ranked according to the regulatory document (GOST R56034–2014) and the order of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 103n dated 28.03.2019 "On approval of the procedure and terms for the development of clinical recommendations, their revision, the standard form of clinical recommendations and requirements for their structure, composition and scientific validity of the information included in clinical recommendations."

Classes of Recommendations. Class 1 includes conditions under which, according to research data and/or the general opinion of experts, the performance of procedures or a particular treatment method is useful, effective, and advantageous. Class 2 refers to conditions under which research evidence is inconsistent, and expert opinion about the usefulness and/or effectiveness of a procedure or specific treatment method differs. Class 3 includes conditions in which according to available data and the general opinion of the experts, the procedure is not useful or effective and in some cases may cause harm.

Levels of evidence. Level A refers to evidence from multiple randomized clinical trials or meta-analyses. Level B refers to data from a single randomized clinical trial or large nonrandomized studies.

Breathing exercises and physical therapy were conducted on all patients of the Medical Rehabilitation and Restorative Treatment Clinic.

The comparison group utilized the physical and rehabilitation medicine methods of the main group according to the evidence-based patient rehabilitation technology table.

In the group with post-COVID syndrome receiving care in the clinic for medical rehabilitation and restorative treatment, restorative treatment programs were applied depending on the concomitant pathology and severity of symptoms in respiratory, cardiovascular, nervous, and other systems.

Patients with prevailing symptoms in the respiratory and cardiovascular systems underwent a course of positional and postural drainage, inhalation therapy with mucolytics, haloinhalation therapy, and low- and high-frequency magnetic therapy in combination with ultraphonophoresis/electrophoresis of anti-fibrotic drugs.

In the rehabilitation program for patients with respiratory insufficiency and prevention of heart attack and stroke, a course of interval hypoxic-hyperoxic therapy consisting of 3–7 procedures was an obligatory component.

Patients with psychoneurological manifestations received a course of transcranial and general magnetotherapy, darsonvalization of the scalp and collar zone in

combination with a course of psychotherapy, electroson therapy, breathing exercises with arbitrary muscle relaxation, and manual therapy.

Patients with muscular and musculoskeletal disorders should have increased tolerance to physical activity by performing physical exercises to improve strength and endurance, such as mechanotrainers, robotic simulators, biofeedback simulators, and massage.

A universal method used in rehabilitation programs for patients with polysyndromal manifestations is low-frequency low-intensity magnetotherapy. The average treatment duration was 14 days.

Upon admission to the clinic and at the end of the rehabilitation treatment, all patients underwent a standard examination: subjective status was assessed, physical examination, functional tests such as blood oxygen saturation (SpO_2), spirometry, Stange and Hinch tests, Borg exercise tolerance scale, and MRC dyspnea scale were evaluated, and the EQ5D quality-of-life questionnaire was completed.

STUDY RESULTS AND DISCUSSION

Based on the results of the analysis of the dynamics of individual indicators monitored at the beginning and end of medical rehabilitation of patients with NCI, the blood oxygen saturation indices normalized in the comparison group from 92.03 ± 0.30 (90%–96%) to 96.76 ± 0.32 (93%–99%, $p < 0.05$) and in the observation group from 92.78 ± 0.37 (90%–97%) to 98.22 ± 0.23 (96%–100%, $p < 0.05$) (Fig. 1). The mean values of the Stange and Hinch tests in the observation and comparison groups showed positive dynamics (Fig. 2). In the observation group, the Stange test before treatment was 39.14 ± 1.44 s; after treatment, 55.31 ± 1.63 s ($p < 0.05$); Hinch's test before treatment, 34.18 ± 1.43 s; after treatment, 48.34 ± 1.24 s ($p < 0.05$). In the comparison group, the Stange test values before and after treatment were 35.74 ± 1.44 s and 53.32 ± 1.63 s ($p < 0.05$), respectively. Hinch's test values before and after treatment were 33.12 ± 1.42 s and 42.54 ± 1.42 s, respectively ($p < 0.05$).

According to spirometry data, the vital capacity of the lungs of the main and control groups with respiratory system diseases was within the physiological norm in the presence of clinical symptoms.

The subjective assessment of the tolerability to the 6-min walk test using the Borg scale from 4.33 ± 0.27 (2–5 points) to 0.86 ± 0.15 (0–2 points) in the observation group and from 4.45 ± 0.26 (2–6 points) to 1.91 ± 0.18 (1–3 points) ($p < 0.05$) in the comparison group (Fig. 3).

The severity of dyspnea according to the MRC dyspnea scale decreased from 3.33 ± 0.34 (4 to 1 point) to 1.33 ± 0.15 (2–1 point) in the comparison group and

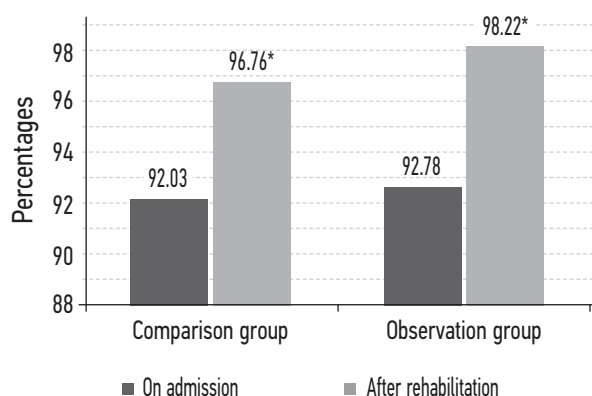


Fig. 1. Dynamics of blood oxygen saturation indices in the comparison and observation groups before and after rehabilitation (SpO_2), $*p < 0.05$

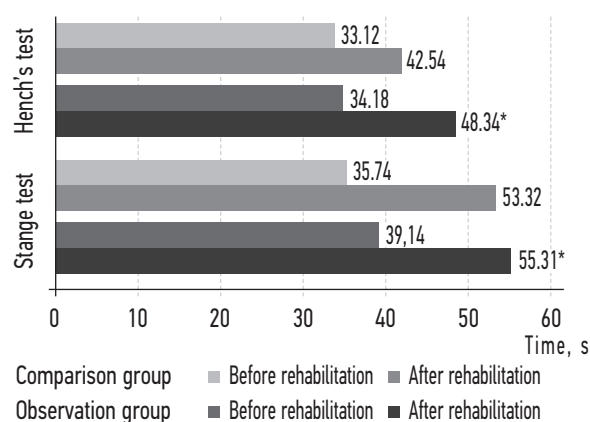


Fig. 2. Dynamics of functional test parameters in the comparison and observation groups before and after rehabilitation ($*p < 0.05$)

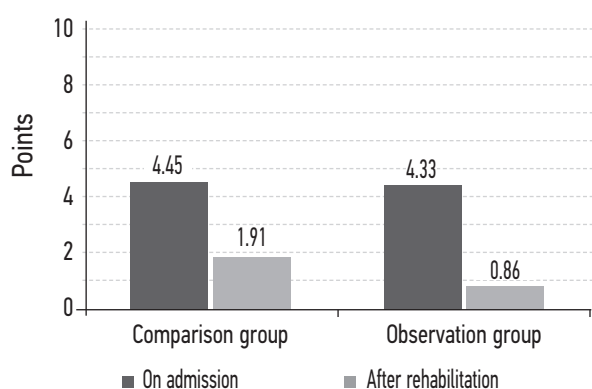


Fig. 3. Dynamics of the subjective assessment of tolerability to the 6-min walk test according to the Borg scale in the comparison and observation groups before and after rehabilitation

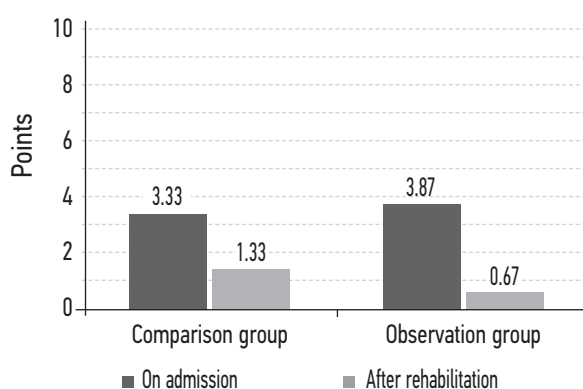


Fig. 4. Dynamics of dyspnea severity reduction according to the MRC dyspnea scale

from 3.84 ± 0.21 (4–1 point) to 0.67 ± 0.15 (1–0 point) ($p < 0.05$) in the observation group (Fig. 4).

In the analysis of patients' quality of life, the presence of health problems of varying degrees in patients of both groups remains. According to the EQ5D questionnaire, patients in both groups reported improved health and quality of life. In patients in the observation group, the before and after treatment values were 1.48 ± 0.18 and 1.12 ± 0.14 , respectively ($p < 0.05$). In the comparison group, the values before and after treatment were 1.76 ± 0.23 and 1.18 ± 0.13 , respectively ($p < 0.05$).

CONCLUSION

The analysis of rehabilitation programs used in the clinic for medical rehabilitation and rehabilitative treatment has shown the possibility and effectiveness of using physical and rehabilitation medicine methods in patients with various manifestations of the post-COVID syndrome. The rehabilitation needs of patients

with NCI are increasingly recognized with a focus on combating respiratory and neuromuscular dysfunction. Nevertheless, our data and data from worldwide scientific sources indicate an urgent need to develop new educational and training programs aimed at interdisciplinary rehabilitation of patients with post-COVID syndrome.

ADDITIONAL INFORMATION

Funding source. This study did not receive funding.

Conflict of interest. The authors declare that there are no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Ethical review. The study was approved by the local ethical committee of the S.M. Kirov Military Medical Academy, Ministry of Defense of the Russian Federation (Protocol No. 210 of 24.06.2022).

Authors' contribution. All authors substantially contributed to the study and article and have read and approved the final version of this article before publication.

REFERENCES

1. d'Ettorre G, Gentilini Cacciola E, Santinelli L, et al. COVID-19 sequelae in working age patients: A systematic review. *Journal of medical virology*. 2022;94(3):858–868. DOI: 10.1002/jmv.273992
2. Ivchenko EV, Kotiv BN, Ovchinnikov DV, Bucenko SA. Results of the work of the Military medical academy research institute of novel coronavirus infection problems through 2020–2021. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2021;23(4):93–104. (In Russ.) DOI: 10.17816/brmma83094
3. Savushkina OI, Cherniak AV, Kryukov EV, et al. Follow-up pulmonary function of COVID-19 patients 4 months after hospital discharge. *Pulmonologiya*. 2021;31(5):580–586. (In Russ.) DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-5-580-587
4. Badenoch JB, Rengasamy ER, Watson C, et al. Persistent neuropsychiatric symptoms after COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Brain communications*. 2021;4(1):fcab297. DOI: 10.1093/braincomms/fcab297
5. Litvinenko IV, Krasakov IV. The disorder of iron metabolism is a possible mechanism for the development of neurodegeneration after new coronavirus infection of SARS-CoV-2. *Russian Military Medical Academy Reports*. 2021;40(4):13–24. (In Russ.) DOI: 10.17816/rmmar83609
6. Litvinenko IV, Odinak MM, Tsygan NV, Ryabtsev AV. The incidence and pathophysiology of neurological symptoms in COVID-19. *Russian Military Medical Academy Reports*. 2021;40(4):33–42. (In Russ.) DOI: 10.17816/rmmar83617
7. Fernández-de-Las-Peñas C, Navarro-Santana M, Plaza-Manzano G, Palacios-Ceña D, Arendt-Nielsen L. Time course prevalence of post-COVID pain symptoms of musculoskeletal origin in patients who had survived severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection: a systematic review and meta-analysis. *Pain*. 2022;163(7):1220–1231. DOI: 10.1097/j.pain.0000000000002496
8. Ayoubkhani D, Khunti K, Nafilyan V, et al. Post-covid syndrome in individuals admitted to hospital with covid-19: retrospective cohort study. *British Medical Journal*. 2021;372:n693. DOI: 10.1136/bmj.n693
9. Ponomarenko GN, Kovlen DV. *Physical and rehabilitation medicine. Evidence-Based Clinical Guidelines*. 3rd edition, revised, supplement. Razumov AN, ed. Moscow: Nauka Publisher; 2020. 248 p.
10. Klok FA, Boon GJAM, Barco S, et al. The Post-COVID-19 Functional Status scale: a tool to measure functional status over time after COVID-19. *European Respiratory Journal*. 2020;56(1):2001494. DOI: 10.1183/13993003.01494-2020

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. d'Ettorre G, Gentilini Cacciola E, Santinelli L, et al. COVID-19 sequelae in working age patients: a systematic review // *Journal of medical virology*. 2022. Vol. 94, No. 3. P. 858–868. DOI: 10.1002/jmv.27399
2. Ивченко Е.В., Котив Б.Н., Овчинников Д.В., Буценко С.А. Результаты работы научно-исследовательского института проблем новой коронавирусной инфекции Военно-медицинской академии за 2020–2021 гг. // *Вестник Российской Военно-медицинской академии*. 2021. Т. 23, № 4. С. 93–104. DOI: 10.17816/brmma83094
3. Савушкина О.И., Черняк А.В., Крюков Е.В., и др. Динамика функционального состояния системы дыхания через 4 месяца после перенесенного COVID-19 // *Пульмонология*. 2021. Т. 31, № 5. С. 580–586. DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-5-580-587
4. Badenoch J.B., Rengasamy E.R., Watson C., et al. Persistent neuropsychiatric symptoms after COVID-19: a systematic review and meta-analysis // *Brain communications*. 2021. Vol. 4, No. 1. Art. fcab297. DOI: 10.1093/braincomms/fcab297
5. Литвиненко И.В., Красаков И.В. Нарушение обмена железа как возможный механизм развития нейродегенерации после новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2 // *Известия Российской Военно-медицинской академии*. 2021. Т. 40, № 4. С. 13–24. DOI: 10.17816/rmmar83609
6. Литвиненко И.В., Одинак М.М., Цыган Н.В., Рябцев А.В. Частота и патофизиологическое обоснование развития неврологических симптомов при COVID-19 // *Известия Российской Военно-медицинской академии*. 2021. Т. 40, № 4. С. 33–42. DOI: 10.17816/rmmar83617
7. Fernández-de-Las-Peñas C., Navarro-Santana M., Plaza-Manzano G., Palacios-Ceña D., Arendt-Nielsen L. Time course prevalence of post-COVID pain symptoms of musculoskeletal origin in patients who had survived severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection: a systematic review and meta-analysis // *Pain*. 2022. Vol. 163, No. 7. P. 1220–1231. DOI: 10.1097/j.pain.0000000000002496
8. Ayoubkhani D., Khunti K., Nafilyan V., et al. Post-covid syndrome in individuals admitted to hospital with COVID-19: retrospective cohort study // *British medical journal*. 2021. Vol. 372. Art. n693. DOI: 10.1136/bmj.n693
9. Пономаренко Г.Н., Ковлен Д.В. Физическая и реабилитационная медицина. Клинические рекомендации, основанные на доказательствах. 3-е изд., перераб., доп. / Под ред. акад. А.Н. Разумова. М.: Наука, 2020. 248 с.
10. Klok F.A., Boon G.J.A.M., Barco S., et al. The Post-COVID-19 Functional Status scale: a tool to measure functional status over time after COVID-19 // *European respiratory journal*. 2020. Vol. 56, No. 1. Art. 2001494. DOI: 10.1183/13993003.01494-2020

AUTHORS' INFO

*Denis V. Kovlen, M.D., D.Sc. (Medicine),
the Head of the Physical and Rehabilitation Medicine Department;
address: 6, Akademika Lebedeva str.,
Saint Petersburg, 194044, Russia;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6773-9713>;
eLibrary SPIN: 6002-2766; Author ID: 689410;
e-mail: denis.kovlen@mail.ru

ОБ АВТОРАХ

*Денис Викторович Ковлен, докт. мед. наук,
начальник кафедры физической и реабилитационной медицины;
адрес: Россия, 194044, г. Санкт-Петербург,
ул. Академика Лебедева, д. 6;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6773-9713>;
eLibrary SPIN: 6002-2766;
Author ID: 689410; e-mail: denis.kovlen@mail.ru

* Corresponding author / Автор, ответственный за переписку

AUTHORS' INFO

Gul'nara R. Abuseva, M.D., Senior Lecturer of the Physical and Rehabilitation Medicine Department, Assistant of the Physical and Rehabilitation Medicine Department;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9525-6361>;
eLibrary SPIN: 9864-9534; Author ID: 1004262;
e-mail: bomar-oz@ya.ru

Stella S. Khoziainova, M.D., Lecturer of the Physical and Rehabilitation Medicine Department, Assistant of the Physical and Rehabilitation Medicine Department;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7231-6018>;
eLibrary SPIN: 4950-2424; Author ID: 1004305;
e-mail: stella.khozyainova@gmail.com

Elena F. Kondrina, M.D., Ph.D. (medicine), Associate Professor, Associate Professor of Physical and Rehabilitation Medicine Department; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5182-1464>;
eLibrary SPIN: 8402-9864; Author ID: 1005302;
e-mail: ekondrina@gmail.com

Liudmila A. Podberezkina, M.D., Ph.D. (Medicine), Associate Professor, Associate Professor of Physical and Rehabilitation Medicine Department; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3680-1240>;
eLibrary SPIN: 2592-8505; Author ID: 1006116;
e-mail: podberezkina.mila@mail.ru

Vladimir N. Ischuk, M.D., Ph.D. (Medicine); Associate Professor of Physical and Rehabilitation Medicine Department;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0137-259X>;
eLibrary SPIN: 7061-7647; Author ID: 944174;
e-mail: docisch@mail.ru

Tamara N. Karpova, M.D., Ph.D. (Medicine), Lecturer of the Physical and Rehabilitation Medicine Department;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2750-2305>;
eLibrary SPIN: 7631-8107; Author ID: 925967;
e-mail: tamarakarpova51@mail.ru

Ivan V. Konoplyankin, M.D., Ph.D. (Medicine), Lecturer of the Physical and Rehabilitation Medicine Department;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0198-151X>;
eLibrary SPIN: 1815-5183; Author ID: 1004800;
e-mail: vankon89@yandex.ru

Alexey S. Kovalev, M.D., D.Sc. (Medicine), Lecturer of the Physical and Rehabilitation Medicine Department;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0646-8603>;
e-mail: kovalevaolga@bk.ru

Sergei V. Tolmachev, M.D., Lecturer of the Physical and Rehabilitation Medicine Department;
e-mail: lana.tolmacheva.57@mail.ru

ОБ АВТОРАХ

Гюльнара Рякитовна Абусева, старший преподаватель кафедры физической и реабилитационной медицины, ассистент кафедры физической и реабилитационной медицины;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9525-6361>;
eLibrary SPIN: 9864-9534; Author ID: 1004262;
e-mail: bomar-oz@ya.ru

Стелла Самвеловна Хозяинова, преподаватель кафедры физической и реабилитационной медицины, ассистент кафедры физической и реабилитационной медицины;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7231-6018>;
eLibrary SPIN: 4950-2424; Author ID: 1004305;
e-mail: stella.khozyainova@gmail.com

Елена Федоровна Кондрина, канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры физической и реабилитационной медицины;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5182-1464>;
eLibrary SPIN: 8402-9864; Author ID: 1005302;
e-mail: ekondrina@gmail.com

Людмила Александровна Подберезкина, канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры физической и реабилитационной медицины; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3680-1240>;
eLibrary SPIN: 2592-8505; Author ID: 1006116;
e-mail: podberezkina.mila@mail.ru

Владимир Николаевич Ищук, канд. мед. наук, доцент кафедры физической и реабилитационной медицины;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0137-259X>;
eLibrary SPIN: 7061-7647; Author ID: 944174;
e-mail: docisch@mail.ru

Тамара Николаевна Карпова, канд. мед. наук, преподаватель кафедры физической и реабилитационной медицины;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2750-2305>;
eLibrary SPIN: 7631-8107; Author ID: 925967;
e-mail: tamarakarpova51@mail.ru

Иван Валентинович Коноплянкин, канд. мед. наук, преподаватель кафедры физической и реабилитационной медицины;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0198-151X>;
eLibrary SPIN: 1815-5183; Author ID: 1004800;
e-mail: vankon89@yandex.ru

Алексей Сергеевич Ковалев, докт. мед. наук, преподаватель кафедры физической и реабилитационной медицины; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0646-8603>;
e-mail: kovalevaolga@bk.ru

Сергей Владимирович Толмачев, преподаватель кафедры физической и реабилитационной медицины;
e-mail: lana.tolmacheva.57@mail.ru

УДК 616.92/93

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar109248>

Научная статья

Борьба с инфекцией, вызванной SARS-CoV-2: опыт и перспективы

К.В. Жданов, К.В. Козлов, О.В. Мальцев, П.И. Миклуш, В.В. Шарабханов, К.В. Касьяненко, В.В. Гордиенко, И.М. Юркаев

Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия

Актуальность. Новая коронавирусная инфекция — чрезвычайная ситуация международного масштаба. Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, в том числе кафедра и клиника инфекционных болезней (с курсом медицинской паразитологии и тропических заболеваний), активно участвует в борьбе с пандемией, а также занимается изучением патогенеза, диагностики и лечения данного заболевания.

Цель — систематизировать выполненную в Военно-медицинской академии работу в отношении борьбы с новой коронавирусной инфекцией.

Материалы и методы. В настоящей статье дана краткая характеристика исследований, проведенных в отношении этого заболевания.

Результаты. Представлен взгляд кафедры на инфекцию, вызванную SARS-CoV-2, кратко отражены основные показатели работы клиники инфекционных болезней в борьбе с новой коронавирусной инфекцией и продемонстрированы собственные исследования в области этого инфекционного заболевания.

Заключение. На основании проделанной нами научной работы, имеющегося опыта лечения пациентов с новой коронавирусной инфекцией сформулированы основные выводы и рекомендации:

1. Необходимо учитывать клиническую особенность новой коронавирусной инфекции — длительный начальный период (до 8 сут), что создает иллюзию мнимого благополучия и способствует поздней госпитализации.

2. Полимеразная цепная реакция не является идеальным методом диагностики, что создает вероятность получения ложноотрицательного результата. В этой связи клинико-эпидемиологическая и рентгенологическая диагностики являются определяющими.

3. Организация раннего активного выявления больных всеми клиническими формами инфекции, вызванной SARS-CoV-2, и своевременная их госпитализация способствуют уменьшению риска развития тяжелого течения, осложнений и эпидемиологической опасности больных.

4. Комплексная противовирусная и антикоагулянтная терапия должна быть ранней (до 5 сут от клинической манифестации), упреждающей, направленной на снижение вероятности развития пневмоний с дыхательной недостаточностью и тромбозов ветвей легочной артерии.

5. Противовоспалительная терапия повышает выживаемость пациентов с тяжелым течением новой коронавирусной инфекции и должна назначаться как можно раньше с превентивной целью при первых минимальных клинико-лабораторных признаках гипервоспалительной реакции.

Ключевые слова: COVID-19; ингибиторы ИЛ-6; клиническая патофизиология; патогенетическая терапия; SARS-CoV-2; электронная микроскопия; этиотропная терапия.

Как цитировать:

Жданов К.В., Козлов К.В., Мальцев О.В., Миклуш П.И., Шарабханов В.В., Касьяненко К.В., Гордиенко В.В., Юркаев И.М. Борьба с инфекцией, вызванной SARS-CoV-2: опыт и перспективы // Известия Российской Военно-медицинской академии. 2022. Т. 41. № 3. С. 251–259. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar109248>

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar109248>
Research Article

Fighting SARS-CoV-2 infection: experience and prospects

Konstantin V. Zhdanov, Konstantin V. Kozlov, Oleg V. Mal'tsev, Panteley I. Miklush,
Valerian V. Sharabkhanov, Kristina V. Kasyanenko, Vera V. Gordienko, Igor' M. Yurkaev

Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

BACKGROUND: COVID-19 is an international emergency. The Military Medical Academy, including the Department and Clinic of Infectious Diseases (with a course in medical parasitology and tropical diseases) are actively involved in the fight against the COVID-19 pandemic, and are also studying the pathogenesis, diagnosis and treatment of this disease.

AIM: to systematize the work done at the Military Medical Academy in relation to the fight against a new coronavirus infection.

MATERIALS AND METHODS: This article provides a brief description of the studies conducted in relation to COVID-19.

RESULTS: The department's view of the infection caused by SARS-CoV-2 is presented, the main indicators of the work of the clinic of infectious diseases in the fight against COVID-19 are briefly reflected, and their own research in the field of this infectious disease is demonstrated.

CONCLUSION: Based on our scientific work, our experience in treating patients with a new coronavirus infection, the main conclusions and recommendations are formulated:

1. It is necessary to take into account the clinical feature of COVID-19 — a long initial period (up to 8 days), which creates the illusion of imaginary well-being and contributes to late hospitalization.
2. PCR is not an ideal diagnostic method, which creates the possibility of obtaining a false negative result. In this regard, clinical, epidemiological and radiological diagnostics are decisive.
3. The organization of early active detection of patients with all clinical forms of infection caused by SARS-CoV-2, and their timely hospitalization helps to reduce the risk of developing a severe course, complications and epidemiological danger of patients.
4. Complex antiviral and anticoagulant therapy should be early (up to 5 days from the clinical manifestation), proactive, aimed at reducing the likelihood of developing pneumonia with respiratory failure and thrombosis of the LA branches.
5. Anti-inflammatory therapy increases the survival of patients with severe COVID-19 and should be administered as early as possible with a preventive goal at the first minimal clinical and laboratory signs of a hyperinflammatory response.

Keywords: clinical pathophysiology; COVID-19; electron microscopy; etiotropic therapy; IL-6 inhibitors; pathogenetic therapy; SARS-CoV-2.

To cite this article:

Zhdanov KV, Kozlov KV, Mal'tsev OV, Miklush PI, Sharabkhanov VV, Kasyanenko KV, Gordienko VV, Yurkaev IM. Fighting SARS-CoV-2 infection: experience and prospects. *Russian Military Medical Academy Reports*. 2022;41(3):251–259. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar109248>

Received: 08.07.2022

Accepted: 14.07.2022

Published: 30.09.2022

По определению Всемирной организации здравоохранения, чрезвычайной ситуацией в области общественного здравоохранения, имеющей международное значение, считается экстраординарное событие, которое представляет риск для здоровья населения в других странах из-за международного распространения болезни, а также способно потребовать скоординированных международных ответных мер. В соответствии с данным определением, новая коронавирусная инфекция (COVID-19) является чрезвычайной ситуацией международного масштаба.

По данным сайта стопкоронавирус.рф, заболеваемость COVID-19 в России по состоянию на середину апреля 2022 г. составляла 3,5 % (1 777 8928 случаев) от глобальной заболеваемости. Многие медицинские учреждения России, в том числе Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова (ВМедА), участвуют в оказании помощи больным с COVID-19 [1]. За 2021 г. в ВМедА было пролечено 56,1 % военнослужащих с этим диагнозом, 23,3 % пациентов по системе обязательного медицинского страхования, 20,5 % прочих льготных пациентов. По отчету главного инфекциониста МО РФ, распределение пациентов по формам заболевания выглядело так: 41,74 % составляла иннаппарантная инфекция; 36,7 % — острая респираторная инфекция верхних дыхательных путей; 21,56 % — вирусное поражение легких.

Распределение госпитализированных пациентов с COVID-19 по клиническим формам в зависимости от преобладающего варианта SARS-CoV-2 в 2020–2021 гг. Все пациенты вносились в соответствующий регистр [2] (табл. 1).

Рост количества вирусных поражений легких у госпитализированных пациентов связан с особенностями течения COVID-19, вызванной разными вариантами SARS-CoV-2, а также логичным совершенствованием амбулаторной помощи.

В клинике инфекционных болезней ВМедА за 2020 г. было пролечено 1609 пациентов с COVID-19, из них со средней тяжестью заболевания 80 %, с тяжелым его течением — 19 %; в 2021 г. — 2053, при этом со средней тяжестью — 62,3 %, с тяжелым течением — 17,7 %.

Показатели работы отделения реанимации и интенсивной терапии клиники инфекционных болезней ВМедА в 2020-м (количество пролеченных пациентов — $n = 115$) и 2021 г. ($n = 175$) в сравнении с данными Федерального дистанционного консультативного центра анестезиологии и реаниматологии Первого Московского государственного

медицинского университета (ПМГМУ) им. И.М. Сеченова ($n = 1522$) были следующими: летальность составила 29,5 % в 2020-м (возраст 64,7 (23–91) лет, койко-день 17,5 (3–61) дней) и 30,8 % в 2021 г. (возраст 62,1 (39–87) лет, койко-день 12 (2–31) дней) в клинике инфекционных болезней ВМедА, в ОРИТ ПМГМУ в 2020 г. летальность составила 65,4 % (медиана возраста 62 года, койко-день 16 (9–27) дней).

Летальность от инфекции, вызванной SARS-CoV-2, по состоянию на март 2022 г. оставалась высокой: глобально в мире — 1,7 %; в России — 2,9 %; в г. Санкт-Петербурге — 3,3 %; в ВМедА — 3,2 %; в Вооруженных силах РФ — 0,1 %. По результатам анализа, проведенного на кафедре инфекционных болезней ВМедА, в структуре коморбидности у умерших чаще всего выявлялись ишемическая болезнь сердца, хроническая сердечная недостаточность, ожирение, сахарный диабет 2-го типа и онкология. Диагноз COVID-19 подтвержден на вскрытии у 100 % умерших (являлся основным клиническим диагнозом у 62,5 %). Средний возраст умерших составлял 65 (42–78) лет, 50 % — старше 73 лет. 62,5 % пациентов были госпитализированы на 10–15-е сут, при этом среднетяжелое течение на момент госпитализации отмечалось у 62,5 % пациентов, средний койко-день составил 17,2 дня.

Учитывая глобальное распространение COVID-19 в 2020–2021 гг., специалисты ВМедА, в т. ч. более 20 специалистов кафедры и клиники инфекционных болезней (с курсом медицинской паразитологии и тропических заболеваний), для оказания методической и практической помощи учреждениям Минздрава РФ были направлены в различные регионы России (Московская, Тульская, Псковская, Курганская, Иркутская области, республики Карелия, Северная Осетия, Тыва, г. Хабаровск), ближнее и дальнее зарубежье (Италия, Сербия, Казахстан) [4, 5].

Для полноценного и эффективного оказания медицинской помощи при COVID-19 необходимо знать клиническую патофизиологию этого заболевания. Как у всех острых инфекционных заболеваний, у него отмечается характерная трехстадийная цикличность (начальный период, разгар и исходы).

Стадия I (начальный период, или ранняя инфекция, с начала заболевания по 6–8-е сут). У большинства пациентов клинически проявляется неспецифическими симптомами, такими как недомогание, лихорадка и сухой

Таблица 1. Динамика распределения клинических форм COVID-19 в зависимости от варианта возбудителя SARS-CoV-2 в 2020–2021 гг., %

Форма заболевания	α-вариант		δ-вариант	
	03–07.2020	10.2020–02.2021	04–08.2021	09–12.2021
Вирусное поражение легких	24,2	64,5	61,0	84,5
ОРЗ	48,1	35,5	39,0	15,5
Иннаппарантная инфекция	27,7	0	0	0

кашель. В течение этого периода SARS-CoV-2 активно реплицируется, в первую очередь в верхних дыхательных путях. Подобно SARS-CoV (связанный со вспышкой SARS в 2002–2003 гг.), SARS-CoV-2 связывается с рецепторами ангиотензинпревращающего фермента 2-го типа. Эти рецепторы в большом количестве присутствуют в эпителии легких и тонкой кишки человека, эндотелии сосудов. В результате воздушно-капельного пути передачи и сродства к легочным рецепторам ангиотензинпревращающего фермента 2-го типа инфекционный процесс обычно проявляется легкими респираторными и системными симптомами. Лечение на этой стадии в первую очередь предполагает использование противовирусных препаратов и симптоматической терапии.

Стадия II (типичный период разгара, легочная инфекция, с 6–8-х сут заболевания по 20–25-е сут). Данная стадия характеризуется вирусной репликацией и легочным воспалением. На этом этапе у пациентов развивается вирусное поражение легких с кашлем, лихорадкой и, в некоторых случаях, гипоксией. При рентгенографии или компьютерной томографии грудной клетки выявляют двусторонние инфильтраты или затемнения по типу «матового стекла». В анализах крови определяют лимфопению, повышение маркеров системного воспаления. Именно на этом этапе большинству пациентов с COVID-19 требуется госпитализация для тщательного наблюдения и лечения. Лечение состоит из поддерживающих мер и доступных противовирусных препаратов. II стадию заболевания следует подразделять на стадию IIA (без гипоксии, с 6–8-х по 12–15-е сут болезни) и стадию IIB (с гипоксией, цитокиновым штормом и ОРДС, с 12–15-х по 20–25-е сут заболевания). На ранней стадии (IIA) в некоторых случаях возможно обойтись без применения глюкокортикостероидов (ГКС). Однако если возникает гипоксия (IIB), пациенты нуждаются в респираторной поддержке и применении противовоспалительной терапии (ГКС, упреждающая таргетная антицитокиновая терапия).

III стадия — при пессимистическом сценарии патогенеза — системное гипервоспаление (с 20–25-х сут болезни). Стадия проявляется синдромом внелегочного системного патологического гипервоспаления. На этой стадии маркеры системного воспаления выражено повышены. COVID-19 приводит к иммунодефициту: снижению количества хелперных, супрессорных и регуляторных Т-клеток. Исследования показали, что у пациентов с тяжелым течением заболевания значительно повышены воспалительные цитокины и биомаркеры, такие как ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-7, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, макрофагальный воспалительный белок 1- α , фактор некроза опухоли- α , С-реактивный белок (СРБ), ферритин и D-димер. На этой стадии развиваются дыхательная недостаточность, другие системные поражения органов, часто — сепсис. Терапия на III стадии ограничивается иммуномодулирующими средствами для уменьшения системного воспаления до того, как оно приведет

к полиорганной дисфункции. В этой фазе активно применяют ГКС, а антицитокиновая терапия уже не показана. В целом, прогноз при развитии этой стадии неопределенный или неблагоприятный [6–8].

Сотрудниками кафедры инфекционных болезней ВМедА исследованы тромботические осложнения COVID-19. Этот вопрос обсуждался учеными академии в ходе МВТФ «Армия-2021» как проблемный [9]. Выявлено, что наиболее высокий риск тромботических осложнений наблюдался у пациентов с ожирением (риск возрастал в 18 раз). Наличие острого нарушения мозгового кровообращения в анамнезе, а также возраст пациентов не оказывали статистически значимого влияния на частоту развития тромботических осложнений.

В клинике инфекционных болезней ВМедА выявлена взаимосвязь некоторых симптомов заболевания с тяжестью течения COVID-19 (α и δ варианты): аносмия чаще определялась у пациентов с легким течением ($p = 0,09$).

При COVID-19 наблюдается типичная лабораторная картина: лейкопения (33,7 %); лимфопения (82,1 %); тромбоцитопения (36,2 %); повышение ЛДГ более 250 ед./л (41,5 %); повышение ферритина более 250 ед./л (86 %); высокие концентрации D-димера (появляются даже у пациентов с ОРВИ).

СРБ, прокальцитонин при коронавирусной пневмонии изначально обычно находятся в пределах референсных значений или незначительно повышены. В период разгара заболевания, как правило, отмечается повышение СРБ при сохранении нормальных значений прокальцитонина. Повышение СРБ и прокальцитонина в динамике свидетельствует о присоединении бактериальной инфекции и коррелирует с тяжестью течения, распространенностью воспалительной инфильтрации и прогнозом при бактериальных осложнениях.

Методикой выбора специфической диагностики является полимеразная цепная реакция (ПЦР) в режиме реального времени (амплификация), чувствительность 76–92 %, специфичность — 100 %. Среда выбора — отделяемое со слизистой носо- и ротоглотки. При этом один и более отрицательный результат не исключает COVID-19. Серологические методы диагностики носят вспомогательные функции [10, 11].

В Минобороны России с марта 2020 г. проводится превентивное сплошное тестирование военнослужащих и гражданского персонала методом ПЦР (до 11,5 тыс. тестов) [12–14].

Активно исследуются дополнительные методы диагностики. Так, в ВМедА изучены возможности электронной микроскопии при исследовании биоптатов слизистой оболочки носоглотки с целью выявления характерных изменений жизненного цикла вируса SARS-CoV-2 в зависимости от фазы инфекционного процесса и клинической формы COVID-19. Результаты электронной микроскопии ткани носоглотки у пациентов с различными клиническими формами инфекции, вызванной SARS-CoV-2: при инapparантной

форме в клетках вирусные частицы выявлены не были; при ОРВИ вирус определялся в начальном периоде, периоде разгара и реконвалесценции; в случае вирусного поражения легких — только в начальном периоде, однако именно при этой форме заболевания визуализировалась наибольшая концентрация вирусных частиц SARS-CoV-2 в везикулах и клетках в целом.

Вероятно, для развития вирусного поражения легких вирус должен накопиться в высоких концентрациях в везикулах. После этого при слиянии гладких везикул с плазматической мембраной происходит одномоментное высвобождение из клетки значительно большего количества вирионов (в сравнении с ОРВИ), что способствует более тяжелому патогенетическому процессу и высокой вероятности гематогенной диссеминации вируса [15].

При лечении COVID-19 применяют важный принцип: строгое соблюдение стандарта лечения с индивидуальным подходом к каждому пациенту. Стратегии терапии пациентов с инфекцией, вызванной SARS-CoV-2, основаны на клинических наблюдениях и гипотетической пользе для больного. Все они требуют оценки с позиций надлежащей клинической практики.

Комплексно и по показаниям применяют этиотропную и патогенетическую терапию. В России используют следующие препараты для этиотропного лечения: «Молнупиравир», «Фавипиравир», «Ремдесивир», «Умифеновир», «Интерферон-альфа 2В», «Антиковидная плазма», «Иммуноглобулин человека против COVID-19», «Регданимаб», «Сотровимаб», «Бамланивимаб + Этесевимаб», «Касиривимаб + Имдевивамаб», «Нирматрелвир + Ритонавир», «Риамиловир».

В качестве противовоспалительной терапии применяются: ГКС, ИЛ-1 ингибиторы («Анакинра»); ИЛ-6 ингибиторы («Тоцилизумаб», «Олокизумаб», «Левелимаб»); иммуноглобулины («Пентоглобин»); JAK-ингибиторы («Барicitиниб», «Руксолитиниб»). Большинство из описанных выше препаратов применяют в военно-медицинских организациях Министерства обороны РФ при COVID-19.

На кафедре инфекционных болезней ВМедА исследована клиническая эффективность и безопасность применения «Риамиловира» при лечении пациентов с инфекцией, вызванной SARS-CoV-2. Препарат дозировался в режиме «off-label» по схеме 250 мг 5 раз в сут. Исследование показало, что раннее начало противовирусной терапии «Риамиловиром» (до 72 ч от момента появления клинических симптомов заболевания) по сравнению с применением комбинации «Умифеновира» с «Рибавирином» в дополнение к стандартной терапии пациентов молодого возраста с COVID-19 ассоциировано со статистически значимым клиническим улучшением и ускорением сроков элиминации вируса со слизистой оболочки носо-, ротоглотки по данным ПЦР [16].

Так же проводилась оценка клинической эффективности и безопасности ингаляционного простациклина (илопрост) у пациентов с COVID-19. Было установлено

статистически значимое снижение длительности лихорадки, выраженности и длительности синдрома общей инфекционной интоксикации, продолжительности кашля в исследуемой группе, а также достоверное увеличение некоторых показателей клинического анализа крови (тромбоциты, лимфоциты). В исследовании показана терапевтическая эффективность и хороший профиль безопасности ингаляционного простациклина у пациентов с COVID-19 средней степени тяжести [17].

На кафедре инфекционных болезней исследована противовоспалительная терапия при COVID-19. В анализ были включены 550 пациентов с этим заболеванием (75 % мужчины, средний возраст 51 (25–86) год). По степени тяжести пациенты распределились следующим образом: тяжелое течение — 99 (18 %), среднетяжелое — 451 (82 %), из них моноклональные антитела (МКА) к ИЛ-6 или его рецепторам применялись у 59 пациентов (10 %) (левелимаб у 12 пациентов, олокизумаб — 32, тоцилизумаб — 15). Определено, что противовоспалительная терапия достоверно улучшает исход заболевания при раннем начале (до 5 сут с момента госпитализации) в условиях инфекционного отделения, когда пациент соответствует критериям среднетяжелого течения заболевания. Летальные исходы были достоверно ассоциированы с поздним началом терапии ГКС совместно с МКА.

При анализе безопасности таргетной антицитокиновой терапии выявлено, что у 40 % пациентов с COVID-19 отмечалось снижение насыщения крови кислородом через 12–72 ч после применения МКА. Данный феномен у ряда пациентов, вероятно, связан с быстрым купированием отека интерстиция в результате применения ингибиторов ИЛ-6 или его рецепторов, и, соответственно, снижению компенсаторных механизмов, направленных на улучшение вентилиционно-перфузионного соотношения в уже поврежденных сосудах легких и альвеолах. Клинически этот феномен приводит к временному снижению оксигенации артериальной крови и связан с поздним применением МКА (позднее 2-го дня нахождения в стационаре), наличием гипертонической болезни, ишемической болезни сердца, ожирения, повышенного содержания глюкозы в венозной крови, моноцитоза, снижения альбумина.

Сотрудниками кафедры исследована эффективность иммунной плазмы (ИП) реконвалесцентов при лечении COVID-19. Важным критерием эффективности лечения является подавление репликации SARS-CoV-2. На фоне проводимой базисной терапии у пациентов из группы контроля отрицательные результаты ПЦР на рибонуклеиновую кислоту (РНК) SARS-CoV-2 были получены на $17,38 \pm 3,25$ сут от начала заболевания. В то же время у пациентов после трансфузии первой дозы ИП РНК SARS-CoV-2 в отделяемом со слизистой рото-, носоглотки не определялась на $6,73 \pm 1,01$ сут ($p < 0,05$). Динамика изменений SpO_2 статистически значимо не различалась в зависимости от проводимой терапии. Так, у реципиентов ИП стабильная нормализация данного показателя происходила

Таблица 2. Характеристики вакцинированных и невакцинированных пациентов с COVID-19

Показатель	Группа № 1 (вакцинированные), $n = 105$	Группа № 2 (невакцинированные), $n = 105$
Возраст, $M \pm SD (SE)$	$32,64 \pm 17,50 (1,7)$	$35,21 \pm 17,22 (1,8)$
Мужской пол, случаи (%)	36 (73,5)	38 (77,6)
Койко-дни, $M \pm SD (SE)$	$11,27 \pm 4,77 (0,46)$	$15 \pm 6,05 (0,44)$

Примечание. M — среднее; SD — стандартное отклонение; SE — стандартная ошибка.

в среднем на $7,93 \pm 0,61$ -е сут, а в группе контроля — на $8,32 \pm 0,76$ -е ($p > 0,05$). Сроки перевода из отделения реанимации и интенсивной терапии в палату у обеих групп статистически значимо не различались [18, 19].

Также на кафедре была проведена сравнительная характеристика инфекции, вызванной SARS-CoV-2, у лиц, вакцинированных и невакцинированных от COVID-19 (табл. 2).

69 % из группы вакцинированных были привиты двумя компонентами Гам-КОВИД-Вак ($n = 72$). В результате исследования выявлено, что вакцинация снижает длительность госпитализации. Также выявлено, что течение COVID-19 у вакцинированных пациентов достоверно легче (у 91,4 % невакцинированных пациентов отмечалось среднетяжелое и тяжелое течение заболевания против 41,9 % вакцинированных).

У вакцинированных пациентов достоверно реже диагностировалась пневмония ($p < 0,001$), а результаты компьютерной томографии легких чаще соответствовали легкой степени поражения (КТ-1) ($p < 0,05$), нежели у невакцинированных. Исследования этого вопроса сотрудниками академии ранее опубликованы и доступны в более подробном виде [20, 21].

На основании исследований (в том числе проведенных сотрудниками нашей кафедры) и имеющегося опыта работы с пациентами с COVID-19 были сформулированы следующие основные выводы и рекомендации:

1. Необходимо учитывать клиническую особенность этого заболевания — длительный начальный период (до 8 сут), что создает иллюзию мнимого благополучия и способствует поздней госпитализации.

2. ПЦР не является идеальным методом диагностики, что создает вероятность получения ложно-отрицательного результата. В этой связи клинито-

эпидемиологическая и рентгенологическая диагностика является определяющей.

3. Организация раннего активного выявления больных всеми клиническими формами инфекции, вызванной SARS-CoV-2, и своевременная их госпитализация способствуют уменьшению риска развития тяжелого течения, осложнений и эпидемиологической опасности больных.

4. Комплексная противовирусная и антикоагулянтная терапия должна быть ранней (до 5 сут от клинической манифестации), упреждающей, направленной на снижение вероятности развития пневмоний с дыхательной недостаточностью и тромбозов ветвей ЛА.

5. Противовоспалительная терапия (ГКС, моноклональные ингибиторы ИЛ-6 и его рецепторов, ингаляции илопроста) повышает выживаемость пациентов с тяжелым течением COVID-19 и должна назначаться как можно раньше с превентивной целью при первых минимальных клинико-лабораторных признаках гипервоспалительной реакции.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Финансирование данной работы не проводилось.

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

Этическая экспертиза. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ (протокол № 252 от 20.07.2021 г.).

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ивченко Е.В., Котив Б.Н., Овчинников Д.В., Буценко С.А. Результаты работы научно-исследовательского института проблем новой коронавирусной инфекции Военно-медицинской академии за 2020–2021 гг. // Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2021. Т. 23, № 4. С. 93–104. DOI: 10.17816/brmma83094
- Загородников Г.Г., Улюкин И.М., Орлова Е.С., и др. Обоснование задач регистра военнослужащих, инфицированных SARS-CoV-2 // Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2020. Т. 22, № 3. С. 153–158. DOI: 10.17816/brmma50552
- Глыбочко П.В., Фомин В.В., Моисеев С.В., и др. Исходы у больных с тяжелым течением COVID-19, госпитализированных для респираторной поддержки в отделения реанимации и интенсивной терапии // Клиническая фармакология и терапия. 2020. Т. 29, № 3. С. 25–36. DOI: 10.32756/0869-5490-2020-3-25-36
- Аминев Р.М., Свистунов С.А., Шипицын К.С., и др. Опыт работы медицинских групп по оказанию помощи Республике Сербия в борьбе с новой коронавирусной инфекцией // Военно-медицинский журнал. 2021. Т. 342, № 6. С. 4–11.

5. Свистунов С.А., Шипицын К.С., Колесников В.В. Международный опыт организации оказания медицинской помощи населению Италии и Сербии военно-медицинскими специалистами в период пандемии COVID-19 // Известия Российской Военно-медицинской академии. 2022. Т. 41, № 1. С. 93–98. DOI: 10.17816/rmmar84023
6. Siddiqi H.K., Mehra M.R. COVID-19 illness in native and immunosuppressed states: A clinical-therapeutic staging proposal // J. Heart Lung Transplant. 2020. Vol. 39, No. 5. P. 405–407. DOI: 10.1016/j.healun.2020.03.012
7. Миннуллин Т.И., Степанов А.В., Чепур С.В., и др. Иммунологические аспекты поражения коронавирусом SARS-CoV-2 // Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2021. Т. 23, № 2. С. 187–198. DOI: 10.17816/brmma72051
8. Фисун А.Я., Лобзин Ю.В., Черкашин Д.В., и др. Механизмы поражения сердечно-сосудистой системы при COVID-19 // Вестник Российской академии медицинских наук. 2021. Т. 76, № 3. С. 287–297. DOI: 10.15690/vramn1474
9. Черкашин Д.В. «Скованные одной цепью, связанные одной целью»: что является первичным в развитии тромботических осложнений при COVID-19 — механизмы воспаления или повреждение эндотелия? // Известия Российской Военно-медицинской академии. 2021. Т. 40, № 3. С. 45–49. DOI: 10.17816/rmmar76904
10. Sethuraman N., Jeremiah S.S., Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2 // JAMA. 2020. Vol. 323, No. 22. P. 2249–2251. DOI: 10.1001/jama.2020.8259
11. Жданов К.В., Козлов К.В., Буланьков Ю.И., и др. Оптимизация диагностики инфекции, вызванной SARS-CoV-2, с использованием полимеразной цепной реакции в крупном многопрофильном стационаре // Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2020. Т. 22, № 2. С. 7–10. DOI: 10.17816/brmma50036
12. Крюков Е.В., Тришкин Д.В., Иванов А.М., и др. Эпидемиологическое исследование коллективного иммунитета против новой коронавирусной инфекции среди разных групп военнослужащих // Вестник Российской академии медицинских наук. 2021. Т. 76, № 6. С. 661–668. DOI: 10.15690/vramn1583
13. Азаров И.И., Овчинников Д.В., Кузин А.А., и др. Оценка поствакцинального коллективного иммунитета против новой коронавирусной инфекции (COVID-19) среди военнослужащих Вооруженных сил Российской Федерации // Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2022. Т. 24, № 2. С. 267–276. DOI: 10.17816/brmma106245
14. Крюков Е.В., Тришкин Д.В., Салухов В.В., Ивченко Е.В. Опыт военной медицины в борьбе с новой коронавирусной инфекцией // Вестник Российской академии наук. 2022. Т. 92, № 7. С. 87–94. DOI: 10.31857/S086958732207009X
15. Крюков Е.В., Жданов К.В., Козлов К.В., и др. Электронно-микроскопические изменения слизистой оболочки носоглотки у пациентов с COVID-19 в зависимости от клинической формы и периода заболевания // Журнал инфектологии. 2021. Т. 13, № 2. С. 5–13. DOI: 10.22625/2072-6732-2021-13-2-5-13
16. Касьяненко К.В., Козлов К.В., Мальцев О.В., и др. Оценка эффективности Риампиовира в комплексной терапии больных COVID-19 // Терапевтический архив. 2021. Т. 93, № 3. С. 290–294. DOI: 10.26442/00403660.2021.03.200719
17. Жданов К.В., Козлов К.В., Касьяненко К.В., и др. Клиническая эффективность и безопасность применения ингаляционного простациклина у больных с инфекцией, вызванной SARS-CoV-2 (проспективное сравнительное исследование) // Журнал инфектологии. 2020. Т. 12, № 3. С. 34–41. DOI: 10.22625/2072-6732-2020-12-3-34-41
18. Лавренчук Д.В., Жданов К.В., Козлов К.В., и др. Клиническая эффективность и безопасность применения иммунной плазмы реконвалесцентов для лечения COVID-19 // Журнал инфектологии. 2022. Т. 14, № 1. С. 53–59. DOI: 10.22625/2072-6732-2022-14-1-53-59
19. Тришкин Д.В., Крюков Е.В., Чернецов В.А., Чернов С.А. Использование антиковидной плазмы от здоровых привитых людей в лечении пациентов с тяжелой коронавирусной инфекцией // Военно-медицинский журнал. 2021. Т. 342, № 2. С. 66–68.
20. Крюков Е.В., Тришкин Д.В., Салухов В.В., и др. Особенности формирования и продолжительность сохранения нейтрализующих антител к S-белку SARS-CoV-2 у лиц, перенесших новую коронавирусную инфекцию (COVID-19) легкого или бессимптомного течения // Вестник Российской академии медицинских наук. 2021. Т. 76, № 4. С. 361–367. DOI: 10.15690/vramn1582
21. Крюков Е.В., Салухов В.В., Котив Б.Н., и др. Факторы, влияющие на содержание IgG-антител к S-белку SARS-CoV-2 в крови у реконвалесцентов после новой коронавирусной инфекции (COVID-19) // Медицинский Совет. 2022. № 4. С. 51–65. DOI: 10.21518/2079-701X-2022-16-4-51-65

REFERENCES

1. Ivchenko EV, Kotiv BN, Ovchinnikov DV, Bucenko SA. Results of the work of the Military medical academy research institute of novel coronavirus infection problems through 2020–2021. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2021;23(4):93–104. (In Russ.) DOI: 10.17816/brmma83094
2. Zagorodnikov GG, Uliukin IM, Orlova ES, et al. Justification of the tasks of the register of military personnel, affected by SARS-CoV-2. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2020;22(3): 153–158. (In Russ.) DOI: 10.17816/brmma50552
3. Glybochko PV, Fomin VV, Moiseev SV, et al. Clinical outcomes of patients with COVID-19 admitted for respiratory support to the intensive care units in Russia. *Clinical pharmacology and therapy*. 2020;29(3):25–36. (In Russ.) DOI: 10.32756/0869-5490-2020-3-25-36
4. Aminev RM, Svistunov SA, Shipitsyn KS, et al. Experience in the work of medical teams to assist the republic of Serbia in the fight against the new coronavirus infection. *Military Medical Journal*. 2021;342(6):4–11. (In Russ.)
5. Svistunov SA, Shipitsyn KS, Kolesnikov VV. International experience in organizing medical care for the population of Italy and Serbia by military medical specialists during the COVID-19 pandemic. *Russian Military Medical Academy Reports*. 2022;41(1):93–98. (In Russ.) DOI: 10.17816/rmmar84023
6. Siddiqi HK, Mehra MR. COVID-19 illness in native and immunosuppressed states: A clinical-therapeutic staging proposal. *J Heart Lung Transplant*. 2020;39(5):405–407. DOI: 10.1016/j.healun.2020.03.012
7. Minnullin TI, Stepanov AV, Chepur SV, et al. Immunological aspects of SARS-CoV-2 coronavirus damage. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2021;23(2):187–198. (In Russ.) DOI: 10.17816/brmma72051
8. Fisun AY, Lobzin YuV, Cherkashin DV, et al. Mechanisms of Damage to the Cardiovascular System in COVID-19. *Annals of the Russian academy of medical sciences*. 2021;76(3):287–297. (In Russ.) DOI: 10.15690/vramn1474

9. Cherkashin DV. "Bonded by one chain, related to one purpose": what is primary in the development of thrombotic complications in COVID-19 — mechanisms of inflammation or endothelium damage? *Russian Military Medical Academy Reports*. 2021;40(3):45–49. (In Russ.) DOI: 10.17816/rmmar76904
10. Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA*. 2020;323(22):2249–2251. DOI: 10.1001/jama.2020.8259
11. Zhdanov KV, Kozlov KV, Bulankov Yul, et al. Optimization of diagnosis of SARS-CoV-2 infection using polymerase chain reaction in a large multi-specialty hospital. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2020;22(2):7–10. (In Russ.) DOI: 10.17816/brmma50036
12. Kryukov EV, Trishkin DV, Ivanov AM, et al. Comparative Cohort Epidemiological Study of Collective Immunity against New Coronavirus Infection among Different Groups of Military Personnel. *Annals of the Russian academy of medical sciences*. 2021;76(6):661–668. (In Russ.) DOI: 10.15690/vramn1583
13. Azarov II, Ovchinnikov DV, Kuzin AA, et al. Assessment of post-vaccination collective immunity against new coronavirus infection (COVID-19) among servicemen of the Armed Forces of the Russian Federation. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2022;24(2):267–276. (In Russ.) DOI: 10.17816/brmma106245
14. Kryukov EV, Trishkin DV, Salukhov VV, Ivchenko EV. Experience of military medicine in the fight against new coronavirus infection. *Herald of the Russian Academy of Sciences*. 2022;92(7):87–94. (In Russ.) DOI: 10.31857/S086958732207009X
15. Kryukov EV, Zhdanov KV, Kozlov KV, et al. Electron microscopic changes in the nasal membrane of patients with COVID-19 depending

- on the clinical form and the period of the disease. *Journal Infectology*. 2021;13(2):5–13. (In Russ.) DOI: 10.22625/2072-6732-2021-13-2-5-13
16. Kasyanenko KV, Kozlov KV, Mal'tsev OV, et al. Evaluation of the effectiveness of Riamilovir in the complex therapy of patients with COVID-19. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2021;93(3):290–294. (In Russ.) DOI: 10.26442/00403660.2021.03.200719
17. Zhdanov KV, Kozlov KV, Kasyanenko KV, et al. Clinical efficacy and safety of nebulized prostacyclin in patients with SARS-CoV-2 (prospective comparative study). *Journal Infectology*. 2020;12(3):34–41. (In Russ.) DOI: 10.22625/2072-6732-2020-12-3-34-41
18. Lavrenchuk DV, Zhdanov KV, Kozlov KV, et al. Clinical efficacy and safety of convalescent plasma therapy for patients with SARS-CoV-2 infection. *Journal Infectology*. 2022;14(1):53–59. (In Russ.) DOI: 10.22625/2072-6732-2022-14-1-53-59
19. Tryshkin DV, Kryukov EV, Chernetsov VA, Chernov SA. Use of anticospecial plasma from healthy vaccinated people in the treatment of patients with severe coronavirus infection. *Military Medical Journal*. 2021;342(2): 66–68. (In Russ.)
20. Kryukov EV, Trishkin DV, Salukhov VV, et al. A Prospective Multicenter Randomized Study State of Humoral Immunity after a New Coronavirus Infection (COVID-19) of a Mild or Asymptomatic Course. *Annals of the Russian academy of medical sciences*. 2021;76(4):361–367. (In Russ.) DOI: 10.15690/vramn1582
21. Kryukov EV, Salukhov VV, Kotiv BN, et al. Factors affecting the content of Ig G-antibodies to S-protein SARS-CoV-2 in the blood of reconvalescents after new coronaviral infection (COVID-19). *Medical Council*. 2022;(4):51–65. (In Russ.) DOI: 10.21518/2079-701X-2022-16-4-51-65

ОБ АВТОРАХ

Константин Валерьевич Жданов, докт. мед. наук, профессор, начальник кафедры инфекционных болезней (с курсом медицинской паразитологии и тропических заболеваний); Scopus Author ID: 6602691874; eLibrary SPIN: 7895-2075; Author ID: 552852; e-mail: zhdanovkv.vma@gmail.com

***Константин Вадимович Козлов**, докт. мед. наук, профессор кафедры инфекционных болезней (с курсом медицинской паразитологии и тропических заболеваний); адрес: Россия, 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4398-7525>; Scopus Author ID: 56924908500; eLibrary SPIN: 7927-9076; Researcher ID: H-9944-2013; e-mail: kosttiak@mail.ru

Олег Вениаминович Мальцев, канд. мед. наук, заместитель начальника кафедры инфекционных болезней (с курсом медицинской паразитологии и тропических заболеваний); ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6286-9946>; eLibrary SPIN: 3570-2580; Author ID: 872412; e-mail: olegdzein@mail.ru

Пантелей Игоревич Миклуш, старший ординатор отделения клиники кафедры инфекционных болезней (с курсом медицинской паразитологии и тропических заболеваний); ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5668-462X>; eLibrary SPIN: 1599-4487; Author ID: 1123238; e-mail: www.pantik.ru@mail.ru

AUTHORS' INFO

Konstantin V. Zhdanov, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, Chief of Infectious Diseases (with a course in Medical Parasitology and Tropical Diseases) Department; Scopus Author ID: 6602691874; eLibrary SPIN: 7895-2075; Author ID: 552852; e-mail: zhdanovkv.vma@gmail.com

***Konstantin V. Kozlov**, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor of Infectious Diseases (with a course in Medical Parasitology and Tropical Diseases) Department; address: 6, Akademika Lebedeva str., Saint Petersburg, 194044, Russia; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4398-7525>; Scopus Author ID: 56924908500; eLibrary SPIN: 7927-9076; Author ID: 695979; Researcher ID: H-9944-2013; e-mail: kosttiak@mail.ru

Oleg V. Mal'tsev, M.D., Ph.D. (Medicine), Deputy Chief of Infectious Diseases (with a course in Medical Parasitology and Tropical Diseases) Department; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6286-9946>; eLibrary SPIN: 3570-2580; Author ID: 872412; e-mail: olegdzein@mail.ru

Panteley I. Miklush, senior resident of the clinic of Infectious Diseases (with a course in Medical Parasitology and Tropical Diseases) Department; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5668-462X>; eLibrary SPIN: 1599-4487; Author ID: 1123238; e-mail: www.pantik.ru@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

ОБ АВТОРАХ

Валериан Валерьевич Шарабханов, канд. мед. наук, старший ординатор отделения клиники кафедры инфекционных болезней (с курсом медицинской паразитологии и тропических заболеваний);

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0526-6006>;

Scopus Author ID: 57217384924; eLibrary SPIN: 7631-4918;

Author ID: 1046474; Researcher ID: AAB-7127-2022;

e-mail: haes87@mail.ru

Кристина Валерьевна Касьяненко, преподаватель кафедры инфекционных болезней (с курсом медицинской паразитологии и тропических заболеваний);

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9294-7346>;

eLibrary SPIN: 4286-2057; Author ID: 904053;

e-mail: dr.snegur@gmail.com

Вера Васильевна Гордиенко, преподаватель кафедры инфекционных болезней (с курсом медицинской паразитологии и тропических заболеваний);

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2078-2196>;

eLibrary SPIN: 8066-7721; Author ID: 909069;

e-mail: ivanovavmeda@gmail.com

Игорь Михайлович Юркаев, канд. мед. наук, доцент кафедры инфекционных болезней (с курсом медицинской паразитологии и тропических заболеваний);

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3858-5660>;

eLibrary SPIN: 4664-1850; Author ID: 487516;

e-mail: igor.yurkaev@yandex.ru

AUTHORS' INFO

Valerian V. Sharabkhanov, M.D., Ph.D. (Medicine), senior resident of the clinic of Infectious Diseases (with a course in Medical Parasitology and Tropical Diseases) Department; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0526-6006>;

Scopus Author ID: 57217384924; eLibrary SPIN: 7631-4918;

Author ID: 1046474; Researcher ID: AAB-7127-2022;

e-mail: haes87@mail.ru

Kristina V. Kasyanenko, lecturer at the Infectious Diseases (with a course in Medical Parasitology and Tropical Diseases) Department; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9294-7346>;

eLibrary SPIN: 4286-2057; Author ID: 904053;

e-mail: dr.snegur@gmail.com

Vera V. Gordienko, lecturer at the Infectious Diseases (with a course in Medical Parasitology and Tropical Diseases) Department; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2078-2196>;

eLibrary SPIN: 8066-7721; Author ID: 909069;

e-mail: ivanovavmeda@gmail.com

Igor' M. Yurkaev, M.D., Ph.D. (Medicine), Associate Professor of Infectious Diseases (with a course in Medical Parasitology and Tropical Diseases) Department; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3858-5660>;

eLibrary SPIN: 4664-1850; Author ID: 487516;

e-mail: igor.yurkaev@yandex.ru

УДК 57.084.1; 616-001.33

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar109211>

Научная статья

Эффективность применения мезенхимальных стромальных клеток для лечения рвано-ушибленных ран в условиях гипотермии и гипоксии

М.В. Волкова¹, В.В. Бояринцев¹, А.В. Трофименко¹, С.П. Рыбалкин², Е.В. Ковалева²,
С.А. Бирюков¹, Г.И. Фильков¹, М.О. Дурыманов¹

¹ Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Московская область, Россия;

² Институт иммунологии Федерального медико-биологического агентства России, Научно-исследовательский центр токсикологии и гигиенической регламентации биопрепаратов, Серпуховский городской округ, Московская область, Россия

Актуальность. Арктические условия осложняют патогенез различных травм кожи и мягких тканей. Для терапии данных заболеваний рассматривается возможность применения мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток, способствующих пролиферации клеток гранулярной ткани, ангиогенезу и сокращению длительности воспалительной фазы при заживлении раны благодаря секреции цитокинов и факторов роста.

Цель — оценка эффективности клеточной терапии на модели рвано-ушибленной раны у крыс, находящихся в условиях гипоксии и гипотермии.

Материалы и методы. Животные содержались в условиях климатической камеры (15 % кислорода, 4 °С) в течение 48 ч. Травму наносили через 24 ч после помещения в контролируемые условия. Введение стволовых клеток осуществляли через 1 сут после нанесения раны. Для инъекции использовали мезенхимальные стромальные клетки, полученные из красного костного мозга крыс Wistar. Используемая клеточная культура имела соответствующий стволовым клеткам иммунофенотип и обладала способностью дифференцировки в остеогенном, хондрогенном и адипогенном направлениях. В ходе исследования у крыс оценивали степень воспалительной реакции в травмированных тканях и наличие возможных патологических выделений из раневого канала, проводили измерения толщины поврежденной лапы.

Результаты. Для описания процесса воспаления проведен гистологический анализ на 6-е и 21-е сут после нанесения раны. На 6-й день исследования отмечена слабая инфильтрация лимфоцитов в мышечной ткани у крыс, которым вводили мезенхимальные стромальные клетки, что может свидетельствовать о более раннем переходе раневого процесса в пролиферативную фазу.

Заключение. Установлено стимулирующее влияние суспензии мезенхимальных стволовых клеток на динамику снижения отека травмированного бедра на 10 % по сравнению с контрольной группой.

Ключевые слова: гипоксия; гипотермия; животная модель; клеточный продукт; ранозаживляющее действие; регенеративная медицина; стволовые клетки; травма.

Как цитировать:

Волкова М.В., Бояринцев В.В., Трофименко А.В., Рыбалкин С.П., Ковалева Е.В., Бирюков С.А., Фильков Г.И., Дурыманов М.О. Эффективность применения мезенхимальных стромальных клеток для лечения рвано-ушибленных ран в условиях гипотермии и гипоксии // Известия Российской Военно-медицинской академии. 2022. Т. 41. № 3. С. 261–268. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar109211>

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar109211>

Research Article

The effectiveness of the use of mesenchymal stromal cells for the treatment of lacerated wounds under conditions of hypothermia and hypoxia

Marina V. Volkova¹, Valery V. Boyarintsev¹, Alexander V. Trofimenko¹, Sergey P. Rybalkin², Elena V. Kovaleva², Stanislav A. Biryukov¹, Gleb I. Filkov¹, Michail O. Durymanov¹

¹ Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University), Dolgoprudny, Moscow Region;

² Institute of Immunology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, Research Center for Toxicology and Hygienic Regulation of Biological Products, Serpukhov City District, Moscow Region

BACKGROUND: Patients Arctic conditions complicate the pathogenesis of various skin and soft tissue injuries. For the treatment of these diseases, the possibility of using multipotent mesenchymal stromal cells, which promote the proliferation of granular tissue cells, angiogenesis, and reduce the duration of the inflammatory phase during wound healing due to the secretion of cytokines and growth factors, is being considered.

AIM: In order to evaluate the effectiveness of cell therapy, experimental studies were carried out on the model of a lacerated wound in rats under conditions of hypoxia and hypothermia.

MATERIALS AND METHODS: The animals were kept in a climate chamber (15% oxygen, 4°C) for 48 hours. Injury was applied 24 hours after placement in controlled conditions. The introduction of stem cells was carried out a day after the wound was applied. Mesenchymal stromal cells obtained from the red bone marrow of Wistar rats were used for injection. The cell culture used had an immunophenotype corresponding to stem cells and had the ability to differentiate in the osteogenic, chondrogenic and adipogenic directions. During the study, the degree of inflammatory reaction in injured tissues and the presence of possible pathological discharges from the wound canal were assessed in rats, and the thickness of the injured paw was measured.

RESULTS: The stimulating effect of the suspension of mesenchymal stem cells on the dynamics of reducing the edema of the injured hip by 10% was established compared to the control group. To describe the process of inflammation, a histological analysis was performed on the 6th and 21st days after the wound was applied. On the 6th day of the study, a weak infiltration of lymphocytes in the muscle tissue was noted in rats that were injected with MMSC, which may indicate an earlier transition of the wound process to the proliferative phase.

CONCLUSION: The stimulating effect of the suspension of mesenchymal stem cells on the dynamics of reducing the edema of the injured hip by 10% was established compared to the control group.

Keywords: animal model; cell product; hypothermia; hypoxia; injury; regenerative medicine; stem cells; wound healing action.

To cite this article:

Volkova MV, Boyarintsev VV, Trofimenko AV, Rybalkin SP, Kovaleva EV, Biryukov SA, Filkov GI, Durymanov MO. The effectiveness of the use of mesenchymal stromal cells for the treatment of lacerated wounds under conditions of hypothermia and hypoxia. *Russian Military Medical Academy Reports*. 2022;41(3):261–268. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar109211>

Received: 06.07.2022

Accepted: 14.07.2022

Published: 30.09.2022

АКТУАЛЬНОСТЬ

Одним из самых распространенных видов травм в мире являются механические травмы различного характера. В Российской Федерации каждый год регистрируется несколько миллионов случаев подобных травм [1]. Многостадийный процесс заживления механических повреждений может быть осложнен влиянием внешних факторов. Например, в условиях Арктической зоны Российской Федерации переохлаждение организма препятствует регенеративным процессам [2]. Воздействие низких температур и гипоксии приводит к сужению сосудов и снижению кровоснабжения тканей в целом [3]. В связи с этим актуальной задачей является разработка новых подходов для ускорения заживления механических повреждений [4].

Важную роль в процессе заживления играют так называемые сигнальные молекулы, включая цитокины, хемокины и факторы роста, которые координируют физиологические процессы восстановления тканей [5]. Данные молекулы вырабатываются различными клетками раневого микроокружения, что обеспечивает, с одной стороны, элиминацию попавших в рану патогенов, а с другой — восстановление барьерной функции кожного покрова. В связи с этим перспективной стратегией лечения подобного рода заболеваний является разработка биомедицинских клеточных продуктов. В качестве основной клеточной культуры могут быть выбраны мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК), способные оказывать ранозаживляющее действие благодаря паракринной секреции цитокинов и факторов роста [6, 7], которая сохраняется в течение первых дней после введения [8]. Таким образом, ММСК способствуют пролиферации клеток гранулярной ткани, ангиогенезу и сокращению длительности воспалительной фазы при заживлении раны [9, 10].

Цель данной работы — изучение влияния внутримышечной инъекции ММСК на скорость заживления рвано-ушибленной раны на животной модели крыс, содержащихся в условиях гипоксии и гипотермии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

ММСК были получены из красного костного мозга крыс Wistar согласно стандартному протоколу [11]. Клеточную культуру выращивали в среде DMEM (Gibco, США) с 10 % бычьей эмбриональной сыворотки (Gibco, США), заменимыми аминокислотами (Capricorn Scientific, Германия), 100 ед./мл пенициллина и 10 мкг/мл стрептомицина (ПанЭко, Россия). Культивирование клеток проводили в атмосфере 5 % углекислого газа при температуре 37 °C и влажности 95 % в инкубаторе Smart Biotherm (Biosan, Латвия).

С целью анализа фенотипа клетки снимали с помощью раствора Версена и окрашивали растворами антител против

CD105 (BiOrbyt, orb187245), CD90 (BioLegend, 206105), CD73 (Bioss, bs-4834R-A488), CD44 (BioLegend, 203906), CD29 (BioLegend, 102205), CD45 (BioLegend, 202205), CD34 (Abcam, ab223930), CD31 (Abcam, ab28364), CD14 (Abcam, ab182032), CD11b (Abcam, ab25533), содержащими 0,5 % бычьего сывороточного альбумина. Анализировали с использованием проточного цитометра CytoFLEX (Beckman Coulter, США). На основании показателей прямого и бокового светорассеяния выбирали одиночные клетки и регистрировали 10 000 событий.

Для дифференцировки клеточной культуры в остеогенном, хондрогенном и адипогенном направлениях клетки культивировали с использованием коммерческих наборов StemPro® Differentiation Kit (Gibco, США) в соответствии с протоколами производителя. Затем проводили окраску дифференцированных и недифференцированных (контроль) ММСК красителями Alizarin Red S, Safranin O и Sudan III соответственно. Изображения клеток получали с помощью микроскопа Axio VertA1 (Zeiss, Германия).

Эксперименты на животных проводились на базе НИЦ ТБП — филиала ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА» в соответствии с Правилами надлежащей лабораторной практики, утвержденными приказом № 199н от 01.04.2016 г. МЗ РФ, и требованиями гуманного обращения с животными. В качестве тест-системы были использованы крысы Wistar, приобретенные в питомнике ФГБУН НЦБМТ ФМБА, филиал «Столбовая».

Для эксперимента использовали модель рвано-ушибленной раны бедра у крыс, которых содержали в климатической камере в течение суток до и после нанесения механической травмы в условиях гипотермии (температура 4 °C) и гипоксии (15 % кислорода в атмосфере) [12]. До помещения в климатическую камеру, а также через 24 и 48 ч у животных измеряли температуру тела.

Рану наносили с помощью чистого стерильного металлического стержня круглого сечения с выступом после обработки 70 % спиртом кожи бедра в области нанесения травмы. Стержень опускали путем свободного падения на бедро крысы с высоты 80 см внутри направляющей трубы. Введение суспензии ММСК (2 млн клеток в мл) или физраствора в мягкие ткани проводили путем инфильтрирования вокруг раны через 24 ч после нанесения травмы.

При обследовании области механической травмы у крыс оценивали степень воспалительной реакции в травмированных тканях и наличие возможных патологических выделений из раневого канала. Определение степени отека проводили путем измерения толщины поврежденной лапы с помощью внешнего микрометра HENGLIANG (Lang Tools, Китай). Измерение толщины бедра проводили до нанесения травмы, а также на 3, 9, 16 и 21-й день после ее нанесения.

Для описания процесса заживления проводили гистологический анализ тканей раны, которые отбирали у трех крыс каждой из групп на 6-е сут после нанесения

механической травмы для оценки морфологической картины первого этапа заживления раны, а также у оставшихся в каждой группе 7 крыс на 21-е сут после нанесения травмы. Изучение гистологических препаратов осуществляли под световым микроскопом CX41 (Olympus, Япония).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выделенные из красного костного мозга крысы ММСК обладают способностью адгезии к пластику и экспрессируют на своей поверхности соответствующие маркеры CD105, CD90, CD73, CD44 и CD29 [13]. При этом экспрессия маркеров CD45, CD34, CD31, CD14 и CD11b менее 2 % подтверждает высокую чистоту и однородность полученной первичной линии. Результаты анализа фенотипа представлены на рис. 1.

Полученные линии ММСК способны дифференцироваться в остеогенном, хондрогенном и адипогенном направлениях (рис. 2) [13]. При использовании Alizarin Red S происходит окрашивание минерализованного внеклеточного матрикса остеобластов по сравнению с недифференцированными ММСК. Окрашивание жировых включений Sudan III подтверждает дифференцировку ММСК в адипоциты. Хондроциты идентифицируются путем окрашивания Safranin O глюкозамингликанов во внеклеточном матриксе.

С целью оценки эффективности клеточного продукта для терапии травм в арктических условиях животных помещали в специально разработанную климатическую камеру.

Результаты контроля температуры тела крыс (табл. 1) показали снижение ее среднего значения на 1 °С в течение времени нахождения в климатической камере. Для крыс температура тела ниже 37 °С является пониженной и свидетельствует о гипотермии [14].

Для проведения различных исследований используют животных с иссеченной раной, когда с их спины аккуратно вырезается часть кожи определенного размера [15]. Нанесение травмы металлическим стержнем в свободном падении обеспечивает получение рвано-ушибленной травмы. Выступ на стержне обеспечивает проникающий механический разрыв кожи и мышц бедра, а сам стержень вызывает контузию мягких тканей (рис. 3).

На 3-й день после травмы и на 2-й — после введения суспензии ММСК или физраствора отмечено увеличение толщины бедра у контрольных и подопытных животных в проекции раневого канала (табл. 2). Травмированные лапы у животных были отечными и плотными при пальпации, раневой канал был закрыт небольших сухим струпом, выделений из-под него не было.

На 6-й день морфологическая картина раны у подопытных и контрольных животных была схожей и соответствовала регенеративной фазе раневого процесса.

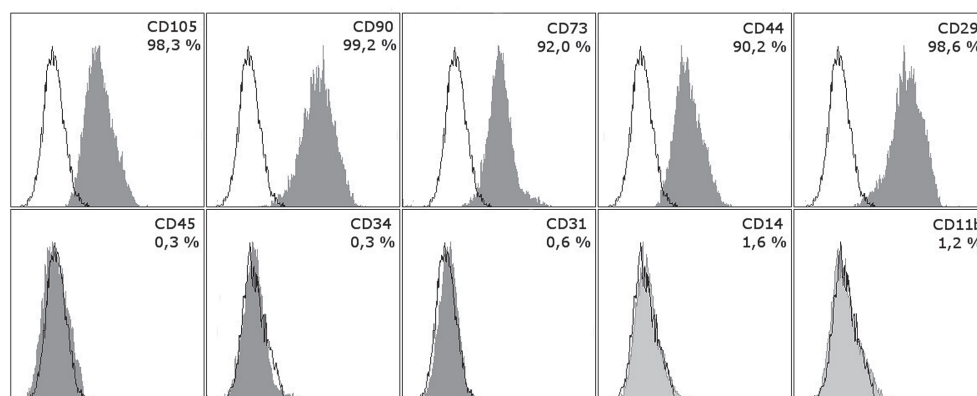


Рис. 1. Фенотип ММСК крысы: распределение клеток, окрашенных антителами против положительных (верхний ряд) и отрицательных (нижний ряд) маркеров

Таблица 1. Средняя температура тела крыс в период нахождения в климатической камере

Исходная	Через 24 ч	Через 48 ч
37,9 ± 0,3	37,0 ± 0,5	36,3 ± 0,3

Таблица 2. Показатели измерения толщины бедра крыс в ходе наблюдений

Препарат	Толщина бедра в день исследования, мм				
	0-й день	3-й день	9-й день	16-й день	21-й день
Физраствор	9,8 ± 0,6	11,7 ± 0,6	11,3 ± 0,6	10,2 ± 0,3	9,4 ± 0,5
МСК	9,3 ± 0,4	12,4 ± 0,6	10,8 ± 0,8	9,1 ± 0,3*	8,1 ± 0,6*

* различие с показателем группы «Физраствор» статистически значимо по *U*-критерию Манна-Уитни при $p = 0,05$.

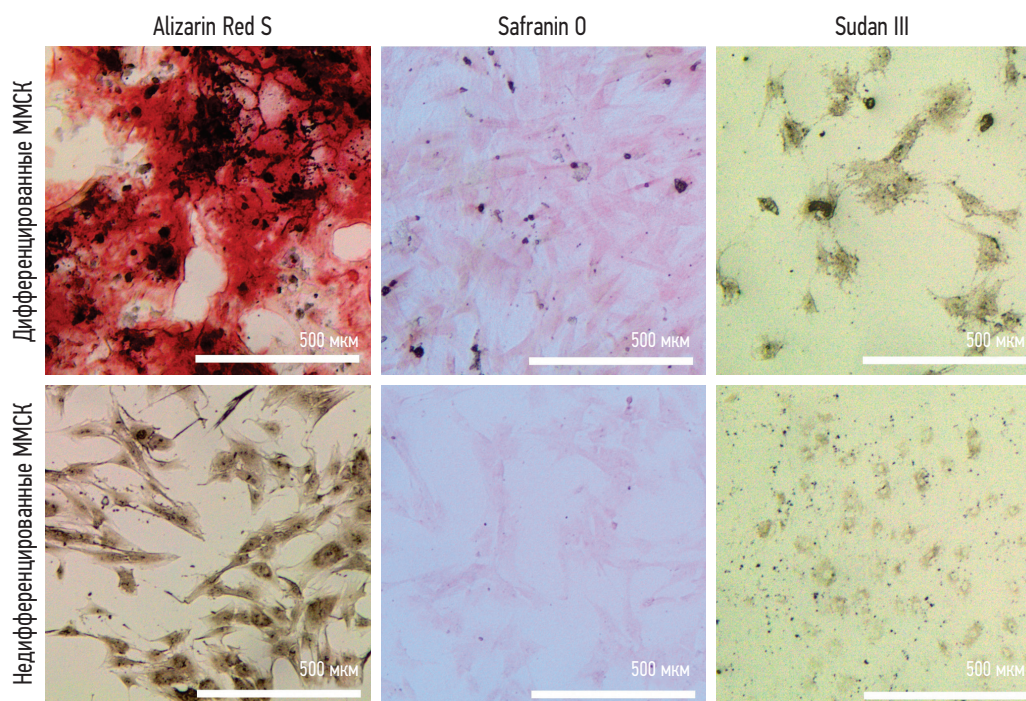


Рис. 2. Дифференцировка ММСК крысы в остециты (Alizarin Red S), хондроциты (Safranin O) и адипоциты (Sudan III)

При этом у животных, которым вводили физраствор, отмечали лимфоцитарную инфильтрацию между волокнами сохранившейся мышечной ткани. У крыс, которым вводили ММСК, подобная инфильтрация была слабо заметна, что может свидетельствовать о более раннем переходе воспалительной фазы раневого процесса в пролиферативную.

На 9-й день установлено снижение толщины бедра у крыс. Поверхность раневого канала у всех животных была полностью покрыта эпителием, струпы на поверхности отсутствовали. При пальпации поврежденной конечности отмечено отсутствие отека тканей.

На 16-й и 21-й дни были установлены статистически значимые различия в толщине бедер крыс подопытной и контрольной групп. Значения толщины в конечный срок исследования у животных, леченных ММСК, оказались меньше исходных, что свидетельствует о высокой степени зрелости рубцовой соединительной ткани и новообразованной мышечной ткани в зоне регенерации.

На 21-й день после нанесения травмы согласно гистологическому анализу отмечена высокая степень регенерации по всей толщине ранее поврежденных тканей у всех подопытных и контрольных животных. Эпителий и дерма в месте травмы имели нормальную гистологическую структуру, под кожей на месте раневого канала имелось разрастание слоя плотной волокнистой соединительной ткани, местами диффузно между волокнами мышечной ткани. На рис. 4 показан толстый слой плотной волокнистой соединительной (рубцовой) ткани между кожей и мышечной тканью. В выноске представлены скопления сидероцитов и соединительной ткани.

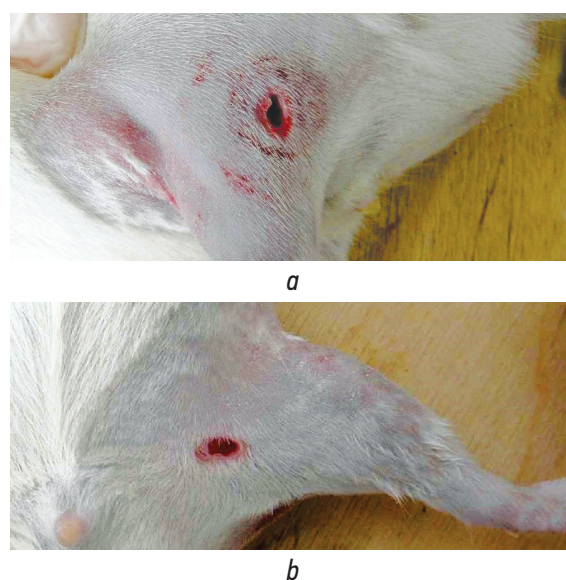


Рис. 3. Вид сквозной рвано-ушибленной раны с наружной (а) и внутренней (b) поверхности бедра

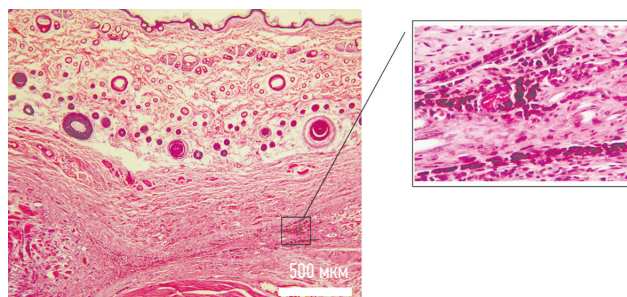


Рис. 4. Морфология участка зажившей раны в области травмы бедра у крысы, леченой ММСК. Окраска гематоксилином и эозином

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного на модели механической травмы исследования установлено стимулирующее влияние суспензии ММСК на заживление рвано-ушибленной раны у крыс после нахождения в течение 48 ч в условиях гипоксии и гипотермии. Динамика снижения отека травмированного бедра в подопытной группе происходит на 10 % быстрее, чем в контрольной. Таким образом, использование ММСК для лечения механических травм является перспективным терапевтическим подходом, который может ускорить процесс заживления.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке гранта в форме субсидии по соглашению

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Здравоохранение в России. 2021. Статистический сборник. М.: Росстат, 2021. 171 с.
2. Черников О.Г., Кульнев С.В., Куприянов С.А., и др. Особенности организации медицинского обеспечения группировок войск (сил) в арктической зоне // Военно-медицинский журнал. 2020. Т. 341, № 4. С. 4–11.
3. Tamama K., Kerpedjieva S.S. Acceleration of wound healing by multiple growth factors and cytokines secreted from multipotential stromal cells/mesenchymal stem cells // *Advances in Wound Care*. 2012. Vol. 1, No. 4. P. 177–182. DOI: 10.1089/wound.2011.0296
4. Александров В.Н., Болехан В.Н., Бунтовская А.С., и др. Развитие клеточных технологий, молекулярно-генетических исследований и тканевой инженерии в Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова и Военном инновационном технополисе «Эра» // Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2019. № 3. С. 243–248.
5. Dash B.C., Xu Z., Lin L., et al. Stem cells and engineered scaffolds for regenerative wound healing // *Bioengineering*. 2018. Vol. 5, No. 1. Art. 23. DOI: 10.3390/bioengineering5010023
6. Slegtenhorst B.R., Dor F.J., Rodriguez H., Voskuil F.J., Tullius S.G. Ischemia/reperfusion injury and its consequences on immunity and inflammation // *Curr. Transplant. Rep.* 2014. Vol. 1, No. 3. P. 147–154. DOI: 10.1007/s40472-014-0017-6
7. Han Y., Li X., Zhang Y., et al. Mesenchymal stem cells for regenerative medicine // *Cells*. 2019. Vol. 8, No. 8. Art. 886. DOI: 10.3390/cells8080886

от 28 ноября 2018 г. № 14.575.21.0179 (уникальный идентификатор проекта RFMEFI57518X0179), заключенному между Министерством науки и высшего образования Российской Федерации и Московским физико-техническим институтом.

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

Этическая экспертиза. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом Научно-исследовательского центра токсикологии и гигиенической регламентации биопрепаратов (ветеринарный протокол № 704 от 14.07.2020 г.).

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

8. Wu X., Jiang J., Gu Z., et al. Mesenchymal stromal cell therapies: immunomodulatory properties and clinical progress // *Stem. Cell Res. Ther.* 2020. Vol. 11, No. 1. Art. 345. DOI: 10.1186/s13287-020-01855-9
9. Li H., Shen S., Fu H., et al. Immunomodulatory functions of mesenchymal stem cells in tissue engineering // *Stem Cells Int.* 2019. Vol. 2019. Art. 9671206. DOI: 10.1155/2019/9671206
10. Fu X., Liu G., Halim A., et al. Mesenchymal stem cell migration and tissue repair // *Cells*. 2019. Vol. 8, No. 8. Art. 784. DOI: 10.3390/cells8080784
11. Soleimani M., Nadri S. A protocol for isolation and culture of mesenchymal stem cells from mouse bone marrow // *Nat. Protoc.* 2009. Vol. 4, No. 1. P. 102–106. DOI: 10.1038/nprot.2008.221
12. Бояринцев В.В., Трофименко А.В., Рыбалкин С.П., и др. Установка для проведения экспериментальных исследований на животных в гипоксических условиях при низких температурах. Пат. 201120. Заявитель и патентообладатель МФТИ — № 2020122211; заявл. 06.07.2020; опубл. 27.11.2020, Бюл. № 33.
13. Fitzsimmons R.E.B., Mazurek M.S., Soos A., Simmons C.A. Mesenchymal stromal/stem cells in regenerative medicine and tissue engineering // *Stem Cells Int.* 2018. Vol. 2018. Art. 8031718. DOI: 10.1155/2018/8031718
14. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных: справочник / Под ред. Макарова В.Г., Макаровой М.Н. СПб.: Лема, 2013. 116 с.
15. Ring A., Goertz O., Steintraesser L., et al. Analysis of biodegradation of copolymer dermis substitutes in the dorsal skinfold chamber of balb/c mice // *Eur. J. Med. Res.* 2006. Vol. 11, No. 11. P. 471–478.

REFERENCES

1. *Zdravookhraneniye v Rossii*. 2021. Statistical compendium. Moscow: Rosstat Publisher; 2021. 171 p. (In Russ.)
2. Chernikov OG, Kulnev SV, Kupriyanov SA, et al. Features of the organization of medical support for troops (forces) in the arctic zone. *Military Medical Journal*. 2020;341(4):4–11. (In Russ.)
3. Tamama K, Kerpedjieva SS. Acceleration of wound healing by multiple growth factors and cytokines secreted from multipotential stromal cells/mesenchymal stem cells. *Advances in Wound Care*. 2012;1(4):177–182. DOI: 10.1089/wound.2011.0296
4. Alexandrov VN, Bolekhan VN, Buntovskaya AS, et al. Development of cell technology, molecular genetics and tissue engineering

ring in S.M. Kirov Military Medical Academy and Military Innovation Technopolis "Era". *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2019(3): 243–248. (In Russ.)

5. Dash BC, Xu Z, Lin L, et al. Stem cells and engineered scaffolds for regenerative wound healing. *Bioengineering*. 2018;5(1):23. DOI: 10.3390/bioengineering5010023

6. Slegtenhorst BR, Dor FJ, Rodriguez H, Voskuil FJ, Tullius SG. Ischemia/reperfusion injury and its consequences on immunity and inflammation. *Curr Transplant Rep*. 2014;1(3):147–154. DOI: 10.1007/s40472-014-0017-6

7. Han Y, Li X, Zhang Y, et al. Mesenchymal stem cells for regenerative medicine. *Cells*. 2019;8(8):886. DOI: 10.3390/cells8080886

8. Wu X, Jiang J, Gu Z, et al. Mesenchymal stromal cell therapies: immunomodulatory properties and clinical progress. *Stem Cell Res Ther*. 2020;11(1):345. DOI: 10.1186/s13287-020-01855-9

9. Li H, Shen S, Fu H, et al. Immunomodulatory functions of mesenchymal stem cells in tissue engineering. *Stem Cells Int*. 2019;2019:9671206. DOI: 10.1155/2019/9671206

10. Fu X, Liu G, Halim A, et al. Mesenchymal stem cell migration and tissue repair. *Cells*. 2019;8(8):784. DOI: 10.3390/cells8080784

11. Soleimani M, Nadri S. A protocol for isolation and culture of mesenchymal stem cells from mouse bone marrow. *Nat Protoc*. 2009;4(1):102–106. DOI: 10.1038/nprot.2008.221

12. Boyarintsev VV, Trofimenko AV, Rybalkin SP, et al. *Ustanovka dlya provedeniya eksperimental'nykh issledovaniy na zhivotnykh v gipoksicheskikh usloviakh pri nizkikh temperaturakh*. Pat. 201120 Applicant and patent holder MIPT — No. 2020122211; decl. 07/06/2020; publ. 11/27/2020, Bull. No. 33. (In Russ.)

13. Fitzsimmons REB, Mazurek MS, Soos A, Simmons CA. Mesenchymal stromal/stem cells in regenerative medicine and tissue engineering. *Stem Cells Int*. 2018;2018:8031718. DOI: 10.1155/2018/8031718

14. Makarov VG, Makarova MN, eds. *Fiziologicheskiye, biokhimicheskiye i biometricheskiye pokazateli normy eksperimental'nykh zhivotnykh: spravochnik*. Saint Petersburg: Lema Publisher; 2013. 116 p. (In Russ.)

15. Ring A, Goertz O, Steinstraesser L, et al. Analysis of biodegradation of copolymer dermis substitutes in the dorsal skinfold chamber of balb/c mice. *Eur J Med Res*. 2006;11(11): 471–478.

ОБ АВТОРАХ

***Марина Викторовна Волкова**, младший научный сотрудник; адрес: Россия, 141701, Московская область, г. Долгопрудный, Институтский переулок, д. 9; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5966-3026>; eLibrary SPIN: 4104-5195; Author ID: 1004074; e-mail: biotech.volkova@list.ru

Валерий Владимирович Бояринцев, докт. мед. наук, профессор, главный научный сотрудник; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9707-3262>; eLibrary SPIN: 2491-7199; Author ID: 279778; e-mail: marinarage@mail.ru

Александр Викторович Трофименко, канд. мед. наук, доцент, заведующий лабораторией; eLibrary SPIN: 5228-7073; Author ID: 964835; e-mail: trofimenko.av@mipt.ru

Сергей Петрович Рыбалкин, канд. биол. наук, директор; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2933-5758>; eLibrary SPIN: 1988-4621; Author ID: 187759; e-mail: rybalkin-sp@yandex.ru

Елена Владимировна Ковалева, старший научный сотрудник; eLibrary SPIN: 2952-1038; Author ID: 124176; e-mail: e-kovaleva@yandex.ru

Станислав Анатольевич Бирюков, докт. физ.-мат. наук, старший научный сотрудник; Author ID: 275194; e-mail: biryukov.sa@mipt.ru

AUTHORS' INFO

***Marina V. Volkova**, Junior Research Fellow; address: 9, Institutsky lane, Dolgoprudny, Moscow Region, 141701, Russia; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5966-3026>; eLibrary SPIN: 4104-5195; Author ID: 1004074; e-mail: biotech.volkova@list.ru

Valery V. Boyarintsev, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, Chief Researcher; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9707-3262>; eLibrary SPIN: 2491-7199; Author ID: 279778; e-mail: marinarage@mail.ru

Alexander V. Trofimenko, M.D., Ph.D. (Medicine), Associate Professor, Head of Laboratory; eLibrary SPIN: 5228-7073; Author ID: 964835; e-mail: trofimenko.av@mipt.ru

Sergey P. Rybalkin, Ph.D. (Biology), director; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2933-5758>; eLibrary SPIN: 1988-4621; Author ID: 187759; e-mail: rybalkin-sp@yandex.ru

Elena V. Kovaleva, Senior Researcher; eLibrary SPIN: 2952-1038; Author ID: 124176; e-mail: e-kovaleva@yandex.ru

Stanislav A. Biryukov, D.Sc. (Physics and Mathematics), Senior Researcher; Author ID: 275194; e-mail: biryukov.sa@mipt.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

ОБ АВТОРАХ

Глеб Игоревич Фильков, научный сотрудник;
eLibrary SPIN: 7733-8460;
Author ID: 964836;
e-mail: filcom.gl@gmail.com

Михаил Олегович Дурыманов, канд. биол. наук,
заместитель заведующего лабораторией;
eLibrary SPIN: 5796-0022;
Author ID: 1021594;
Researcher ID: T-8711-2018;
e-mail: durymanov.mo@mipt.ru

AUTHORS' INFO

Gleb I. Fil'kov, Researcher;
eLibrary SPIN: 7733-8460;
Author ID: 964836;
e-mail: filcom.gl@gmail.com

Michail O. Durymanov, Ph.D. (Biology),
Deputy Head of Laboratory;
eLibrary SPIN: 5796-0022;
Author ID: 1021594;
Researcher ID: T-8711-2018;
e-mail: durymanov.mo@mipt.ru

УДК 616.88

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar84024>

Научная статья

Анализ деятельности нештатных формирований Службы медицины катастроф Министерства обороны Российской Федерации при ликвидации медико-санитарных последствий чрезвычайных ситуаций и пути ее совершенствования

А.П. Овчаренко, Р.Н. Лемешкин

Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия

Цель исследования — анализ деятельности нештатных формирований Службы медицины катастроф Министерства обороны Российской Федерации при ликвидации медико-санитарных последствий чрезвычайных ситуаций и пути ее совершенствования.

Материалы и методы. Материалами исследования послужили различные исторические документы и доступные литературные источники, характеризующие деятельность медицинской службы Вооруженных сил Российской Федерации (СССР) в ходе ликвидации медико-санитарных последствий чрезвычайных ситуаций различного характера мирного времени. Выполнен контент-анализ массива исторических документов с последующей содержательной интерпретацией для выявления проблемных факторов в практической деятельности нештатных формирований Службы медицины катастроф Министерства обороны Российской Федерации. Полученные результаты были сведены в общую исследовательскую матрицу с целью определения их конкретного вклада в деятельность медицинских работников, привлекаемых в составе различных групп, бригад, и были подвергнуты факторному анализу, что позволило полученные ранжированные (порядковые) ответы экспертов обработать для последующей интерпретации.

Результаты. В результате проведенного исследования наиболее значимой проблемой стала «слабая оснащенность медицинских работников медицинскими изделиями, лекарственными средствами и санитарно-хозяйственным имуществом, необходимым для работы в зоне ЧС», а наименее значимым — «возможность проведения безопасной оценки объектов окружающей среды на индикацию возбудителя инфекционной природы, химического заражения и радиационного загрязнения».

Заключение. В результате проведенного анализа проблемных вопросов профессиональной деятельности медицинских работников из состава нештатных формирований Службы медицины катастроф Министерства обороны Российской Федерации были определены наиболее значимые обобщающие факторы: «всестороннее обеспечение нештатных формирований Службы медицины катастроф» (вклад фактора в общую дисперсию — 30,3 %); «профессиональная деятельность нештатных формирований Службы медицины катастроф» (12,3 %); «уровень готовности нештатных формирований Службы медицины катастроф» (10,1 %). Полученные результаты позволяют своевременно принимать решения органами управления медицинским обеспечением разного уровня по организации ликвидации медико-санитарных последствий чрезвычайных ситуаций с привлечением нештатных формирований в виде отрядов, бригад, групп.

Основными путями совершенствования функционирования нештатных формирований Службы медицины катастроф Министерства обороны Российской Федерации при ликвидации медико-санитарных последствий чрезвычайных ситуаций следует считать оптимизацию их организационно-штатной структуры, улучшение качества оснащения медицинскими и материально-техническими ресурсами, а также повышение уровня готовности военно-медицинских специалистов к действиям по предназначению.

Ключевые слова: бригады; военно-медицинские организации; группы; медицинские работники; нештатные формирования; Служба медицины катастроф; чрезвычайные ситуации.

Как цитировать:

Овчаренко А.П., Лемешкин Р.Н. Анализ деятельности нештатных формирований Службы медицины катастроф Министерства обороны Российской Федерации при ликвидации медико-санитарных последствий чрезвычайных ситуаций и пути ее совершенствования // Известия Российской Военно-медицинской академии. 2022. Т. 41. № 3. С. 269–276. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar84024>

Рукопись получена: 28.10.2021

Рукопись одобрена: 04.03.2022

Опубликована: 30.09.2022

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar84024>
Research Article

Analysis of the activities of non-staff units of the Disaster Medicine Service of the Ministry of Defense of the Russian Federation in the liquidation of the medical and sanitary consequences of emergencies and ways to improve it

Alexander P. Ovcharenko, Roman N. Lemeshkin

Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

AIM: Analysis of activities and ways to improve the functioning of emergency units of the Disaster Medicine Service of the Ministry of Defense of the Russian Federation in eliminating the medical consequences of emergency situations.

MATERIALS AND METHODS: The materials of the study were various historical documents and available literary sources characterizing the activities of the medical service of the Armed Forces of the Russian Federation (USSR) during the elimination of the medical consequences of emergencies of various peacetime. A content analysis of an array of historical documents was carried out with subsequent meaningful interpretation to identify problematic factors in the practical activities of non-staff units of the Disaster Medicine Service of the Ministry of Defense of the Russian Federation. The identified problematic questions ($n = 10$) were formulated, grouped and presented in the form of a corresponding questionnaire with a subsequent survey of military medical specialists ($n = 440$). The findings were compiled into a common research matrix to determine their specific contribution to the activities of healthcare professionals engaged in different teams and were factorally analyzed, allowing the resulting ranked (ordinal) expert responses to be processed for subsequent interpretation. The consistency of respondents' opinions was estimated using a rank correlation coefficient — the Kendell concordance coefficient (W).

RESULTS: As a result of the study, the most significant problem issue was “the poor equipment of medical workers with medical products, medicines and sanitary equipment necessary for work in the emergency zone”, and the least significant was “the possibility of conducting a safe assessment of environmental objects for indication of the causative agent of infectious nature, chemical contamination and radiation pollution”. Based on the fact that the total number of problematic questions was 10, all of them were narrowed to 3 fundamental internal (hidden) generalizing factors as a result of factor analysis: “comprehensive provision of emergency units of the Disaster Medicine Service of the Ministry of Defense of the Russian Federation” (the factor's contribution to the general dispersion is 30.3%), “professional activity of emergency units of the Disaster Medicine Service of the Ministry of Defense of the Russian Federation” (12.3%), “level of readiness of emergency units of the Disaster Medicine Service of the Ministry of Defense of the Russian Federation” (10.1%).

CONCLUSION: As a result of the analysis of problematic issues of the professional activities of medical workers from non-staff units of the Disaster Medicine Service of the Ministry of Defense of the Russian Federation, the most significant generalizing factors were identified: «comprehensive provision of non-staff units of the Disaster Medicine Service» (the factor's contribution to the general dispersion is 30.3%), “professional activity of non-staff units of the Disaster Medicine Service” (12.3%). The obtained results allow making timely decisions by the medical support management bodies of various levels on the organization of the elimination of the medical consequences of emergency situations with the involvement of emergency formations in the form of detachments, brigades, and groups. The main ways to improve the functioning of emergency units of the Disaster Medicine Service of the Ministry of Defense of the Russian Federation in the elimination of the medical consequences of emergency situations should be considered to be the optimization of their organizational and staff structure, improving the quality of equipment with medical and material and technical resources, as well as increasing the level of readiness of military medical specialists for action on purpose.

Keywords: brigades; Disaster medicine service; emergencies; emergency formations; groups; medical workers; military medical organizations.

To cite this article:

Ovcharenko AP, Lemeshkin RN. Analysis of the activities of non-staff units of the Disaster Medicine Service of the Ministry of Defense of the Russian Federation in the liquidation of the medical and sanitary consequences of emergencies and ways to improve it. *Russian Military Medical Academy Reports*. 2022;41(3):269–276. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar84024>

Received: 28.10.2021

Accepted: 04.03.2022

Published: 30.09.2022

ВВЕДЕНИЕ

Чрезвычайные ситуации (ЧС) различного характера отличаются внезапностью, разрушением социальной инфраструктуры, возникновением массовых санитарных и безвозвратных потерь [1, 2]. Общепринятая терминология определяет медико-санитарные последствия ЧС как комплексную характеристику ЧС, включающую содержание, объем и организацию медико-санитарного обеспечения, величину и характер возникших санитарных потерь, нуждаемость пораженных в различных видах медицинской помощи, условия проведения лечебно-эвакуационных мероприятий в зоне ЧС, изменения санитарно-эпидемиологической обстановки, сложившейся в результате ЧС, выход из строя или нарушение деятельности медицинских организаций различного профиля, нарушение жизнеобеспечения населения в зоне ЧС и прилегающих к ней территориях. В этих условиях возникает резкое несоответствие между острой потребностью в оказании медицинской помощи в экстренной и неотложной формах массовому количеству раненых, больных и пораженных и возможностями имеющихся сил и средств местных органов здравоохранения, иногда с их полной или частичной дезорганизацией системы управления. Санитарная и эпидемиологическая обстановка в очаге ЧС обычно резко нарушены, что создает условия для возникновения массовых инфекционных заболеваний (эпидемий). В подобной ситуации на службу медицины катастроф (СМК) ложится большая нагрузка, связанная с необходимостью ликвидации медицинских последствий ЧС. Всероссийская СМК, являясь одной из главных функциональных подсистем Единой государственной системы предупреждения и ликвидации ЧС, объединяет службы медицины катастроф Минздрава, Минобороны (МО) и Министерства внутренних дел РФ, а также силы и средства ОАО «Российские железные дороги», Федерального медико-биологического агентства РФ и других федеральных органов исполнительной власти, одним из направлений деятельности которых является ликвидация медико-санитарных последствий ЧС. Основным принципом лечебно-эвакуационных мероприятий в настоящее время является эшелонированное (этапное) лечение с эвакуацией по назначению [3]. Своевременное оказание медицинской помощи в необходимом объеме критически важно для раненых, больных и пораженных в ЧС, особенно находящихся в тяжелом состоянии [4]. Оптимальным сценарием является минимизация этапного лечения: за оказанием первой помощи выполняется медицинская эвакуация в медицинские организации соответствующего профиля для оказания специализированной медицинской помощи (СМП), в том числе высокотехнологичной [5, 6]. Задачи, структура, состав сил и средств, порядок деятельности СМК МО РФ изложены в приказе МО РФ от 30 декабря 2017 г. № 844 «Об утверждении Положения о Службе медицины катастроф Министерства

обороны Российской Федерации». Медицинская помощь пострадавшим в ЧС оказывается на основе клинических рекомендаций по медицине катастроф и учитывает существующие актуализированные стандарты ее оказания. В клинических рекомендациях по ведению пациентов хирургического профиля с тяжелой травмой существенное место отведено изложению тактики запрограммированного многоэтапного хирургического лечения [7, 8].

В процессе практической деятельности специалистов нештатных формирований (НФ) в ходе ликвидации медико-санитарных последствий ЧС возникает множество препятствий и затруднений организационного, технического, медицинского и правового характера. На сегодняшний день остаются резервы для совершенствования деятельности СМК МО РФ по ликвидации медицинских последствий ЧС, в том числе с участием НФ. Неясными представляются векторы дальнейшего развития функционирования НФ в составе Всероссийской СМК МО РФ. Данные факторы определяют актуальность проведенного исследования.

Цель исследования — анализ деятельности и пути совершенствования функционирования НФ СМК МО РФ при ликвидации медико-санитарных последствий ЧС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для достижения поставленной цели исследование разделили на 2 этапа. Первым этапом выполнили ретроспективный анализ исторических аспектов ликвидации медико-санитарных последствий ЧС различного характера, в том числе с участием СМК МО РФ. Выполнен контент-анализ массива исторических документов, описывающих организацию и результаты функционирования медицинской службы и СМК МО РФ по ликвидации медико-санитарных последствий ЧС различного характера как на территории РФ (СССР), так и в других странах с последующей содержательной интерпретацией для выявления фактов и тенденций изученных документов. Вторым этапом провели проспективное изучение проблем функционирования НФ СМК МО РФ. Проблемы сформулировали на основании анализа опыта ликвидации медико-санитарных последствий ЧС, выполненного на первом этапе исследования, и представили в виде соответствующей анкеты. После этого проведено анкетирование 440 врачей-специалистов, входящих в состав НФ СМК МО РФ. Каждому из анкетированных выдан блок из 10 вопросов. Разноплановые проблемы (Pr) сведены в единую исследовательскую матрицу с целью определения их конкретного вклада в деятельность медицинских работников, привлекаемых в составе различных групп, бригад. В исследовательскую матрицу вошли: слабая базовая основа в виде актуализированных нормативных правовых документов, регламентирующих деятельность медицинских работников в различных режимах ЧС и в составе нештатного формирования (Pr 1);

слабая оснащенность медицинских работников медицинскими изделиями, лекарственными средствами и санитарно-хозяйственным имуществом, необходимым для работы в зоне ЧС (Pr 2); слабая подготовка медицинских работников по вопросам организации медицинской эвакуации, в том числе санитарно-авиационной (Pr 3); несвоевременное и некачественное повышение квалификации медицинских работников из состава нештатных формирований по вопросам их деятельности в условиях ЧС (Pr 4); наличие современных средств защиты от поражающих факторов различных (инфекционных и неинфекционных) видов ЧС (Pr 5); отсутствие необходимых навыков и умений (в том числе и коммуникационных) у медицинских работников в случае их привлечения для работы в составе нештатных формирований за рубежом (Pr 6); порядок взаимодействия с органами управления и медицинскими специалистами других министерств, агентств и служб, привлекаемых для ликвидации медико-санитарных последствий ЧС (Pr 7); возможность проведения безопасной оценки объектов окружающей среды на индикацию возбудителя инфекционной природы, химического заражения и радиационного загрязнения (Pr 8); соблюдение условий труда и защита интересов медицинских работников в случае их привлечения в составе нештатных формирований для выполнения своих функциональных обязанностей в зоне ЧС (Pr 9); знание и выполнение медицинскими работниками требований порядка оказания медицинской помощи на основе клинических рекомендаций с учетом стандартов, а также медико-тактической обстановки в конкретной зоне ЧС (Pr 10). Каждому из вопросов специалист присваивал оценку по трехбалльной системе: «не важно» — 1-е ранговое место; «важно» — 2-е; «очень важно» — 3-е место с присуждением соответствующего балла.

Для статистического анализа полученных данных выбрали ряд программ, наиболее пригодных для решения возникающих задач. В частности, использовалась программа PAST¹, в которой реализованы современные, наиболее надежные непараметрические процедуры статистического оценивания и проверки статистической значимости наблюдаемых эффектов. Категориальные данные представлены в виде единиц и процентов (долей). Непрерывные данные представлены в виде «среднее (стандартное отклонение)». Оценка значимости различия частот наблюдений изучаемых признаков выполнена с использованием непараметрического критерия χ^2 . Для оценки статистической неоднородности в диагностических таблицах сопряженности 2×2 по точному критерию Фишера использовали интерактивный калькулятор Fisher's exact test p -value calculator, 2×2 and 2×3 ². Различия между переменными признавались значимыми при $p < 0,05$. Основной объем полученных данных был подвергнут

статистической обработке с применением программного продукта IBM SPSS Statistics 25. Согласованность мнений респондентов оценили с помощью рангового коэффициента корреляции — коэффициента конкордации Кендалла (W). Результаты исследования были подвергнуты факторному анализу, что позволило обработать ранжированные (порядковые) ответы экспертов для последующей интерпретации.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе организации лечебно-эвакуационного обеспечения пострадавшего населения и результатов ликвидации медико-санитарных последствий ЧС природного характера, возникших в послевоенные годы (землетрясения в Ашхабаде в ночь с 5 на 6 октября 1948 г., Ташкенте 26 апреля 1966 г., Перу 31 мая 1970 г.), была продемонстрирована правильность следования принципу приближения медицинской помощи к очагу массовых санитарных потерь, и в первую очередь именно специализированной хирургической помощи (СХП). Быстро налаженная система оказания медицинской помощи включала развертывание ряда полевых госпиталей, оборудование поликлинических отделений и четко организованную медицинскую эвакуацию. Эти меры позволили уже с первых дней работы в очаге ЧС эффективно оказывать медицинскую помощь, в том числе СХП. В ходе ликвидации последствий землетрясения в Армянской ССР 7 декабря 1988 г. силами группы медицинского усиления (ГМУ) совместно с органами гражданского здравоохранения в аэропорту был развернут эвакуационный приемник для пострадавших, эвакуируемых воздушным транспортом в лечебные учреждения Еревана и Тбилиси. Силами и средствами Ленинаканского гарнизонного военного госпиталя (ВГ), оперативной группы Центрального военно-медицинского управления МО СССР, а также отряда СМП (293 человека) был развернут многопрофильный госпиталь на 450 коек, организованы медицинская сортировка раненых, оказание квалифицированной медицинской помощи и эвакуация в ВГ Москвы и Ленинграда [9–11]. Богатый и во многом трагический опыт, приобретенный в ходе ликвидации последствий различных ЧС, позволил создать СМК МО РФ, в основу деятельности которой был заложен принцип привлечения сил и средств военно-медицинских организаций центрального и окружного подчинения. В военно-медицинских организациях были сформированы врачебно-сестринские бригады, бригады СМП, в том числе радиологические, подвижные группы санитарно-эпидемиологического профиля, которые были ориентированы на оказание квалифицированной и СМП при авариях и катастрофах (в частности, радиационных), проведение противозидемических (профилактических) мероприятий, а также созданы отдельные медицинские отряды специального назначения (омедо СпН).

¹ <http://folk.uio.no/ohammer/past/>.

² <https://www.coggenomics.org/software/stats>.

На современном этапе примером деятельности СМК МО РФ может служить ликвидация медико-санитарных последствий террористического акта 1 сентября 2004 г. в средней школе № 1 Беслана (Республика Северная Осетия). Со стороны медицинской службы Вооруженных сил (ВС) РФ для оказания медицинской помощи гражданскому населению было привлечено 40 врачей, 31 человек из числа среднего медперсонала, выделено 18 единиц техники и резервные койки военно-медицинских организаций. Медицинская эвакуация раненых военнослужащих силовых структур осуществлялась санитарным автотранспортом в 236-й ВГ (г. Владикавказ) и санитарным самолетом Ан-72 в госпитали центра (1 человека — в Главный военный клинический госпиталь (ГВКГ) им. Н.Н. Бурденко и 10 — в 3-й Центральный военный клинический госпиталь (ЦВКГ) им. А.А. Вишневского) [12, 13].

Медицинская служба ВС РФ принимала участие в ликвидации медико-санитарных последствий стихийного бедствия на территории Хабаровского края и Амурской области в августе-сентябре 2013 г. Были задействованы 301-й Военный клинический госпиталь (ВКГ) (г. Хабаровск), военные госпитали (г. Благовещенск, г. Белогорск, г. Биробиджан, г. Екатеринославка, г. Свободный); структурные подразделения 1029-го Центра госсанэпиднадзора (ЦГСЭН) (г. Белогорск и г. Лесозаводск), специалисты 736 Главного ЦГСЭН. Медицинские отряды специального назначения были представлены 301-м (г. Хабаровск) и 1586-м ВКГ (г. Подольск). Кроме того, военно-медицинские организации округа были усилены бригадами СМП ГВКГ им. Н.Н. Бурденко, ЦВКГ им. П.В. Мандрыка, 3-го ЦВКГ им. А.А. Вишневского, Военно-медицинской академии (ВМедА) им. С.М. Кирова: четыре терапевтические бригады (по одной бригаде в филиалах и структурных подразделениях 301-го ВКГ в Хабаровске, Бикине, Белогорске, Благовещенске); одна инфекционная бригада — в военном госпитале г. Биробиджан; одна инфекционная бригада усилила полевой многопрофильный госпиталь ВЦМК «Защита» Минздрава России, прибывший в аэропорт Дземги (г. Комсомольск-на-Амуре). Для оказания медицинской помощи гражданскому населению было развернуто два медицинских поста в н. п. Троицкое и в г. Комсомольск-на-Амуре, а в военно-медицинских организациях Восточного военного округа было зарезервировано 460 коек, в военных санаториях и домах отдыха — 308 койко-мест. Всего за период работы в Дальневосточном регионе силами медицинской службы ВС РФ была оказана медицинская помощь более чем 2,5 тыс. местных жителей и привито иммунобиологическими препаратами более 23 тыс. человек [14].

Медицинская служба ВС РФ принимала участие в ликвидации последствий вспышки сибирской язвы в Ямало-Ненецком автономном округе (ЯНАО). 25.07.2015 г. в Ямальском районе ЯНАО был введен карантин из-за этого заболевания. Для ликвидации последствий в Национальном центре управления обороной РФ был создан

оперативный штаб группировки с целью управления силами и средствами Центрального военного округа (ЦВО) во взаимодействии с Роспотребнадзором, Минздравом и МЧС РФ. Основной задачей было недопущение возникновения и распространения случаев заболевания сибирской язвой среди личного состава ВС РФ, привлекаемого к ликвидации очага, и местного населения. В целях усиления штатных сил и средств медицинской службы ЦВО были привлечены специалисты из ВМедА им. С.М. Кирова, 3-го ЦВКГ им. А.А. Вишневского и 736-го Главного ЦГСЭН.

Эффективные действия военно-медицинских специалистов подтверждены и в борьбе с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19). В исполнение поручения президента РФ В. Путина и по просьбе Итальянской Республики 22–25 марта 2020 г. РФ направила в эту страну около 100 военных вирусологов и специалистов МО РФ в области эпидемиологии, 8 врачебно-сестринских бригад, а также оборудование для диагностики и проведения дезинфекционных мероприятий. В Итальянской Республике сводные отряды МО РФ выполняли поставленные задачи (дезинфекция сооружений и зданий как снаружи, так и внутри — пансионатов, домов для престарелых, санаториев и госпиталей, а также дорог с твердым покрытием и площадей) в наиболее пострадавшей области (Ломбардия, провинции Брешиа и Бергамо). В Республике Сербия сводным отрядом МО РФ был проведен комплекс дезинфекционных мероприятий более чем на 100 объектах в 25 городах. Врачебно-сестринские бригады МО РФ провели осмотр и приняли участие в лечении около 500 пациентов, инфицированных COVID-19.

Таким образом, ретроспективный анализ имеющегося опыта ликвидации медико-санитарных последствий ЧС позволил сформулировать один из важнейших принципов лечебно-эвакуационного обеспечения пострадавших в ЧС на современном этапе развития СМК МО РФ. Он заключается в максимальном приближении медицинской помощи к очагу массовых санитарных потерь в зоне ЧС с приоритетом оказания медицинской помощи в экстренной и неотложной формах и при необходимости с последующей медицинской эвакуацией в медицинские организации, для чего возможно привлечение медицинских работников различного профиля в составе нештатных формирований (НФ) СМК. В ходе изучения особенностей ликвидации медицинских последствий приведенных в ретроспективной части работы ЧС нами был сформулирован ряд проблемных вопросов, с которыми столкнулись специалисты НФ СМК МО РФ. Опрошенные эксперты из состава НФ военно-медицинских организаций центрального и окружного подчинения распределили проблемы по уменьшению их значимости (по трехбалльной шкале) следующим образом: $Pr\ 2\ (2,59 \pm 0,53) > Pr\ 6\ (2,50 \pm 0,55) > Pr\ 7\ (2,43 \pm 0,59) > Pr\ 9\ (2,40 \pm 0,58) > Pr\ 5\ (2,39 \pm 0,56) \geq Pr\ 10\ (2,39 \pm 0,57) > Pr\ 1\ (2,35 \pm 0,57) > Pr\ 4\ (2,35 \pm 0,61) > Pr\ 3\ (2,28 \pm 0,61) > Pr\ 8\ (2,23 \pm 0,55)$, где самой значимой стала «слабая оснащенность медицинских работников

медицинскими изделиями, лекарственными средствами и санитарно-хозяйственным имуществом, необходимым для работы в зоне ЧС», а наименее значимой — «возможность проведения безопасной оценки объектов окружающей среды на индикацию возбудителя инфекционной природы, химического заражения и радиационного загрязнения». В результате факторного анализа пространство исходных признаков было сужено до 3 фундаментальных внутренних (скрытых) факторов. Первый фактор (фактор 1) распределил свою нагрузку на следующие жестко взаимоскоррелирующие проблемы:

- слабая базовая основа в виде актуализированных нормативных правовых документов, регламентирующих деятельность медицинских работников в различных режимах ЧС и в составе НФ (0,72);
- несвоевременное и некачественное повышение квалификации медицинских работников из состава НФ по вопросам их деятельности в условиях ЧС (0,70);
- слабая оснащенность медицинских работников медицинскими изделиями, лекарственными средствами и санитарно-хозяйственным имуществом, необходимым для работы в зоне ЧС (0,65);
- соблюдение условий труда и защита интересов медицинских работников в случае их привлечения в составе НФ для выполнения своих функциональных обязанностей в зоне ЧС (0,64).

Второй фактор (фактор 2) распределил свою нагрузку на следующие жестко взаимоскоррелирующие проблемы:

- возможность проведения безопасной оценки объектов окружающей среды на индикацию возбудителя инфекционной природы, химического заражения и радиационного загрязнения (0,73);
- порядок взаимодействия с органами управления и медицинскими специалистами других министерств, агентств и служб, привлекаемых для ликвидации медико-санитарных последствий ЧС (0,69);
- знание и выполнение медицинскими работниками требований порядка оказания медицинской помощи на основе клинических рекомендаций с учетом стандартов, а также медико-тактической обстановки в конкретной зоне ЧС (0,69).

Третий фактор (фактор 3) распределил свою нагрузку на следующие жестко взаимоскоррелирующие проблемы:

- наличие современных средств защиты от поражающих факторов различных (инфекционных и неинфекционных) видов ЧС (0,76);
- отсутствие необходимых навыков и умений (в том числе и коммуникационных) у медицинских работников в случае их привлечения для работы в составе нештатных формирований за рубежом (0,74);
- слабая подготовка медицинских работников по вопросам организации медицинской эвакуации, в том числе санитарно-авиационной (0,6).

Были определены значимые различия между рассматриваемыми проблемами (χ -квадрат Пирсона составил 168,9, $p < 0,001$). Для определения согласованности мнений экспертов был рассчитан коэффициент конкордации Кендалла (W), который составил 0,04. Степень согласованности экспертов оказалась высокой, что говорит о едином восприятии смысловой нагрузки качеств по представленным проблемам.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование проблем профессиональной деятельности медицинских работников из состава НФ СМК МО РФ позволили получить ее иерархическую структуру. В результате проведенного исследования нам удалось сформулировать три фундаментальных обобщающих фактора из общего числа проблем, которые влияют на организацию функционирования НФ СМК МО РФ: «всестороннее обеспечение НФ СМК» (вклад фактора в общую дисперсию — 30,3 %); «профессиональная деятельность НФ СМК» (12,3 %); «уровень готовности НФ СМК» (10,1 %). На основе полученных данных логичным представляется оптимизация функционирования НФ СМК с направлением вектора усилий на наиболее значимые проблемы и параллельным проведением более углубленных исследований в данной области. Целесообразным является улучшение взаимодействия между собой сотрудников НФ СМК. Организация оказания медицинской помощи при ЧС, в том числе медицинской эвакуации, напрямую зависит от управленческого воздействия на полученные и интерпретированные результаты экспертного опроса. Возможность своевременного отклика органов управления медицинским обеспечением СМК МО РФ на имеющиеся запросы со стороны врачей-специалистов, принимающих участие в ликвидации медико-санитарных последствий ЧС в составе нештатных формирований (отряды, бригады, группы), благоприятно скажется на эффективности их функционирования и положительно отразится на общей системе лечебно-эвакуационного обеспечения ВСМК.

Таким образом, основными путями совершенствования функционирования нештатных формирований СМК МО РФ при ликвидации медико-санитарных последствий чрезвычайных ситуаций необходимо считать:

- оптимизацию организационно-штатной структуры и материального оснащения нештатных формирований СМК МО РФ в соответствии с предполагаемыми задачами и профессиональными компетенциями ее специалистов;
- обеспечение готовности нештатных формирований СМК МО РФ, систем их оповещения к действиям по предназначению в условиях ЧС;
- создание и рациональное использование медицинских и материально-технических ресурсов для работы нештатных формирований СМК МО РФ в ЧС.

При этом с учетом имеющихся профессиональных компетенций военно-медицинских специалистов из военно-медицинских организаций центрального подчинения, накопленного и проанализированного выше опыта на третьем уровне медицинского обеспечения следует формировать многопрофильные специализированные хирургические ГМУ. Такие группы предназначены для оказания СХП в сокращенном объеме раненым и пораженным, усиления штатных медицинских воинских частей и подразделений при их перегрузке, создания специализированных госпиталей на базе общехирургических. Группа может усиливать любое штатное медицинское подразделение не ниже медо СпН. В современных условиях существенно возрастает значение СМП, в том числе высокотехнологичной по профилю «хирургия» (СВМПХ), в системе медицинского обеспечения пострадавших в ЧС. На базе военно-медицинских организаций, расположенных наиболее близко к очагам санитарных потерь, происходит перепрофилизация первых за счет сил и средств многопрофильной специализированной хирургической группы, после чего эти организации готовы к приему пострадавших и оказанию сокращенной СВМПХ. В первую очередь это связано с постоянным увеличением числа пострадавших с тяжелыми множественными и сочетанными травмами и ранениями, при которых единственно возможным вариантом спасения жизни становится своевременное оказание СМП. Решается эта задача путем организации оказания сокращенной СВМПХ, которую реализуют двумя путями: приближением медицинской помощи к очагу

массовых санитарных потерь или своевременной санитарно-авиационной эвакуацией пострадавших в многопрофильный госпиталь. В обоих случаях критический период до начала оказания СВМПХ не должен превышать 2 ч. При возникновении природных и техногенных ЧС медицинские специалисты любой военно-медицинской организации должны быть готовы к оказанию СВМПХ в полном объеме в соответствии с современными требованиями и стандартами [15]. При этом хирургам необходимо придерживаться единых подходов и взглядов на травму и четко представлять себе систему непрерывного лечения, в свое время разработанную в военной медицине и до сих пор остающуюся непревзойденной формой организации лечебно-эвакуационного обеспечения пострадавших.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Финансирование данной работы не проводилось.

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

Этическая экспертиза. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ.

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексанин С.С., Рыбников В.Ю., Нестеренко Н.В., Якирев И.А., Попов А.С. Аэромобильный госпиталь МЧС России: задачи, основные подразделения, оснащение, варианты развертывания при ликвидации последствий чрезвычайных ситуаций // Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. 2021. № 3. С. 5–17. DOI: 10.25016/2541-7487-2021-0-3-05-17
2. Теряев В.Г. Медицина чрезвычайных ситуаций. М., 2014. 496 с.
3. Агаджанян В.В. Политравма: проблемы и практические вопросы // Политравма. 2006. № 1. С. 5–8.
4. Бойко И.В., Зафт В.Б., Лазаренко Г.О. Организация экстренной медицинской помощи пострадавшим с политравмой на этапах медицинской эвакуации // Медицина неотложных состояний. 2013. № 2 (49). С. 77–84.
5. Баранова Н.Н. Медицинская эвакуация пострадавших: состояние, проблемы. Сообщение 1 // Медицина катастроф. 2018. № 4. С. 37–40.
6. Гребенюк А.П., Лисина Е.А., Лисин П.Л., Старков А.В. Медицинские технические устройства для медицинской эвакуации раненых и пострадавших в чрезвычайных ситуациях // Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. 2020. № 1. С. 21–35. DOI: 10.25016/2541-7487-2020-0-1-21-35
7. Брюсов П.Г. Запрограммированное многоэтапное хирургическое лечение при политравме // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2009. № 10. С. 42–46.
8. Быстров М.В. Клинические рекомендации по медицине катастроф (разработка и внедрение) // Медицина катастроф. Служба медицины катастроф. Информационный сборник. 2014. № 2. С. 1–6.
9. Авдохин В.П. Землетрясения и меры по облегчению их воздействия (обзор) // Гражданская оборона: информ. сб. по материалам зарубеж. печати. 1989. № 5. С. 13–20.
10. Крючков, О.А., Лемешкин Р.Н. Медицинские аспекты ликвидации последствий землетрясения в г. Ташкенте 26 апреля 1966 года // Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. 2017. № 1. С. 29–39.
11. Очерки истории отечественной военной медицины. Кн. XI: Гладких П.Ф. Главное военно-медицинское управление Министерства обороны Российской Федерации (История строительства), 1805–1998 гг. / Под ред. П.Ф. Гладких, В.В. Перельгина. СПб., 2003. 131 с.
12. Бобий Б.В., Авраменко В.А. Некоторые особенности террористических актов и их влияние на деятельность здравоохранения // Медицина катастроф. 2008. № 1. С. 15–17.

13. Гончаров С.Ф., Крюков А.П., Крюков В.И., Шабанов В.Э. Организация медицинского обеспечения пораженных при террористическом акте в г. Беслан 3 сентября 2004 г. // Медицина катастроф. 2004. № 3–4. С. 13.
14. Бутаев Т.М., Каболова З.З., Тедеева Л.У., Батрак Н.И. Современные принципы организации санитарно-эпидемиологиче-

ского надзора в чрезвычайных ситуациях, обусловленных катастрофическими наводнениями // Медицина катастроф. 2012. № 2 (78). С. 46–49.

15. Брюсов П.Г. Медицина катастроф и военно-полевая хирургия // Медицина катастроф. 2010. № 2 (70). С. 19–21.

REFERENCES

- Aleksanin SS, Rybnikov VYu, Nesterenko NV, Yakirevich IA, Popov AS. Airmobile hospital of EMERCOM of Russia: tasks, main units, equipment, deployment options for eliminating consequences of emergencies. *Medico-Biological and Socio-Psychological Problems of Safety in Emergency Situations*. 2021;(3):5–17. (In Russ.) DOI: 10.25016/2541-7487-2021-0-3-05-17
- Teryaev VG. *Emergency medicine*. Moscow; 2014. 496 p. (In Russ.)
- Agadzhanian VV. Polytrauma: problems and practical questions. *Polytrauma*. 2006;(1):5–8. (In Russ.)
- Boyko IV, Zaft VB, Lazarenko GO. Organization of emergency medical assistance to victims with polytrauma at the stages of medical evacuation. *Emergency medicine*. 2013;(2(49)):77–84. (In Russ.)
- Baranova NN. Medical evacuation of victims: condition, problems. Message 1. *Disaster Medicine*. 2018;(4):37–40. (In Russ.)
- Grebenyuk AN, Lisina EA, Lisin PL, Starkov AV. Medical technical devices for medical evacuation of wounded and injured in emergency situations. *Medico-Biological and Socio-Psychological Problems of Safety in Emergency Situations*. 2020;(1):21–35. (In Russ.) DOI: 10.25016/2541-7487-2020-0-1-21-35
- Bryusov PG. Programmed multi-stage surgical treatment for polytrauma. *Pirogov Russian Journal of Surgery = Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova*. 2009;(10):42–46. (In Russ.)
- Bystrov MV. Clinical recommendations on disaster medicine (development and implementation). *Disaster Medicine*. 2014;(2):1–6. (In Russ.)
- Avdokhin VP. Earthquakes and measures to alleviate their impact (review). *Civil Defense: inform. collection of materials abroad*. Seals. 1989;(5):13–20. (In Russ.)
- Kryuchkov OA, Lemeshkin RN. Medical aspects of mitigation of consequences of an earthquake in Tashkent on April 26, 1966. *Medico-Biological and Socio-Psychological Problems of Safety in Emergency Situations*. 2017;(1):29–39. (In Russ.)
- Essays on the history of Russian military medicine. Book XI: Gladkikh PF, Pereygin VV, eds. *The Main Military Medical Directorate of the Ministry of Defense of the Russian Federation (History of Construction), 1805–1998*. Saint Petersburg; 2003. 131 p. (In Russ.)
- Bobi BV, Avramenko VA. Some features of terrorist acts and their impact on health care activities. *Disaster medicine*. 2008;(1): 15–17. (In Russ.)
- Goncharov SF, Kryukov AP, Kryukov VI, Shabanov VE. Organization of medical support for those affected by the terrorist act in Beslan on September 3, 2004. *Disaster medicine*. 2004;(3–4):13. (In Russ.)
- Butaev TM, Kabolova ZZ, Tedeewa LU, Batrak NI. Modern principles of organization of sanitary and epidemiological surveillance in emergency situations caused by catastrophic floods. *Disaster medicine*. 2012;(2(78)):46–49. (In Russ.)
- Bryusov PG. Disaster medicine and military field surgery. *Disaster medicine*. 2010(2(70)):19–21. (In Russ.)

ОБ АВТОРАХ

***Александр Павлович Овчаренко**, адъюнкт при кафедре организации здравоохранения и общественного здоровья; адрес: Россия, 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6; eLibrary SPIN: 9285-5620; Author ID: 1089595; e-mail: ovcharenko.aleksander2018@yandex.ru

Роман Николаевич Лемешкин, докт. мед. наук, профессор кафедры организации и тактики мед. службы; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8291-6965>; eLibrary SPIN: 8660-5837; Author ID: 835558; e-mail: lemeshkinroman@rambler.ru

AUTHORS' INFO

***Alexander P. Ovcharenko**, Adjunct at the Healthcare Organization and General Health Department; address: 6, Akademika Lebedeva str., Saint Petersburg, 194044, Russia; eLibrary SPIN: 9285-5620; Author ID: 1089595; e-mail: ovcharenko.aleksander2018@yandex.ru

Roman N. Lemeshkin, M.D., D.Sc. (Medicine), full Professor at the Organization and Tactics of the Medical Service Department; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8291-6965>; eLibrary SPIN: 8660-5837; Author ID: 835558; e-mail: lemeshkinroman@rambler.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar83952>
Research Article

The application of modern psychophysiological hardware and software complexes in prediction of resistance to combat psychological stress

Evgeniy A. Chernyavskiy, Natalya V. Zelenina, Vladislav V. Yusupov, Anton V. Grigorov

Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

Modern concepts about the dynamics of states of servicemen following combat mental trauma are presented. Psychological mechanisms of the development of post-traumatic stress disorder are described. The results of the psychological examination of servicemen-combatants are briefly summarized. It is shown that 40% of them have negative psychological consequences of combat stress in the form of signs of partial post-traumatic stress disorder, which correlate with manifestations of neurotic disorders. Signs of partial post-traumatic stress disorder in healthy military combatants reduce the self-assessment of the quality of life but do not significantly affect the professional aspect of social functioning in favorable conditions, which does not allow identifying the presence of negative psychological consequences of combat stress by commander expert assessment.

In addition to the psychological examination, the servicemen underwent stress testing on the “Rehacor” hardware psychophysiological software complex, which consisted in the fact that the subject was alternately presented with stress stimuli consisting of video and audio sequences on the monitor screen and in headphones in accordance with a pre-compiled scenario. In the course of stress testing the physiological parameters of the subject were recorded. In military personnel with signs of partial post-traumatic stress disorder, a decrease in the threshold of sensitivity to stress was found, which in combat conditions can lead to the development of acute stress-induced mental disorders and be the reason for the growth of violations, mistakes, the adoption of incorrect operational and tactical decisions, the demoralization of personnel, the growth of sanitary and irretrievable losses and losses of military equipment and weapons.

Based on the physiological parameters obtained during stress testing, a method for diagnosing signs of partial post-traumatic disorder has been developed. This method makes it possible to objectify the identification of the negative psychological consequences of combat stress and can be used in the interests of psychological and psychiatric intelligence.

Keywords: combat psychological stress; military combatants; psychological and psychiatric intelligence; partial post-traumatic stress disorder; psychophysiological hardware and software complex; psychophysiological stress testing; stress resistance.

To cite this article:

Chernyavskiy EA, Zelenina NV, Yusupov VV, Grigorov AV. The application of modern psychophysiological hardware and software complexes in prediction of resistance to combat psychological stress. *Russian Military Medical Academy Reports*. 2022;41(3):277–282. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar83952>

Received: 27.10.2021

Accepted: 12.02.2022

Published: 30.09.2022

УДК 616.895:355.34:616-072.8

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar83952>

Научная статья

Использование современных психофизиологических аппаратно-программных комплексов в прогнозировании устойчивости к боевому стрессу

Е.А. Чернявский, Н.В. Зеленина, В.В. Юсупов, А.В. Григоров

Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия

В статье приведены современные представления о динамике состояний военнослужащих после боевой психической травмы. Описаны психологические механизмы развития посттравматического стрессового расстройства. Изложены результаты психологического обследования военнослужащих-комбатантов. Показано, что у 40 % из них имеются негативные психологические последствия боевого стресса в виде признаков парциального посттравматического стрессового расстройства, которые взаимосвязаны с проявлениями невротического регистра. Признаки парциального посттравматического стрессового расстройства у здоровых военнослужащих-комбатантов снижают самооценку качества жизни, но не оказывают заметного влияния на профессиональный аспект социального функционирования в благоприятных условиях, что не позволяет идентифицировать наличие негативных психологических последствий боевого стресса по экспертным оценкам командиров.

Помимо психологического обследования военнослужащие проходили стресс-тестирование на аппаратном психофизиологическом программном комплексе «Реакор», которое состояло в том, что обследуемому на экране монитора и в наушники в соответствии с предварительно составленным сценарием поочередно предъявляли стресс-стимулы, состоящие из видео- и аудиорядов. В ходе стресс-тестирования регистрировали физиологические показатели обследуемого. У военнослужащих с признаками парциального посттравматического стрессового расстройства обнаружено снижение порога чувствительности к стрессу, что в условиях боевых действий может приводить к развитию острых стресс-индуцированных психических расстройств и быть причиной роста нарушений, ошибок, принятия неправильных оперативно-тактических решений, деморализации личного состава, роста санитарных и безвозвратных потерь и потерь боевой техники и вооружения.

На основании физиологических показателей, полученных при стресс-тестировании, разработан способ диагностики признаков парциального посттравматического расстройства. Этот способ позволяет объективизировать выявление негативных психологических последствий боевого стресса и может быть использован в интересах психолого-психиатрической разведки.

Ключевые слова: боевой психологический стресс; военнослужащие-комбатанты; парциальное посттравматическое стрессовое расстройство; психолого-психиатрическая разведка; психофизиологический аппаратно-программный комплекс; психофизиологическое стресс-тестирование; стрессоустойчивость.

Как цитировать:

Чернявский Е.А., Зеленина Н.В., Юсупов В.В., Григоров А.В. Использование современных психофизиологических аппаратно-программных комплексов в прогнозировании устойчивости к боевому стрессу // Известия Российской Военно-медицинской академии. 2022. Т. 41. № 3. С. 277–282. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar83952>

BACKGROUND

Combat stress is one of the main damaging factors of military operations, which can lead to significant personnel losses because of the development of mental disorders. Mental disorders related to combat mental trauma can be acute or delayed. Acute mental disorders are transient mental disorders of varying severity that last several hours or days. Posttraumatic stress disorder (PTSD) is the most common among delayed mental disorders, which can be noted for several weeks, months, or years. Statistical data on the prevalence of mental disorders was contradicting because of the different nature of accounting and assessment criteria, such as diagnostic approaches, nature or stage of the armed conflict, and category of the servicemen examined. Thus, in 1945, during the fighting on Okinawa Island, Japan, relocates from the combat zone, because of combat psychological stress in American troops, accounted for 48.8% of the total number of wounded. In the Korean conflict, this figure decreased to 20%–25%, and during the Vietnam War, it increased significantly again, reaching 35%.

According to various data from American researchers, PTSD is clinically diagnosed in 12.5%–44.0% of combatants, and individual signs, partial PTSD (PPTSD), are detected in 63.0%–91.5% of healthy military personnel, often accompanied by deviant forms of behavior (suicidal, addictive, delinquent, etc.). Thus, by the early 1990s, approximately 100 thousand Vietnamese veterans committed suicide and 40 thousand combatants lived aloof from the world. Many American sources emphasize that the number of suicides far exceeds the number of those killed in the war. A high violence rate and issues in family relations and social contacts were noted among this category of veterans [1].

Numerous and sometimes contradictory concepts have described mechanisms of PTSD development, based on the physiological, psychological, phenomenological, sociocultural, and other levels of research. Currently, the category of concepts that best explain the mechanisms of PTSD development includes biopsychosocial models of the occurrence of this disorder, in which three groups of pathogenetic factors (biological, psychological, and social) correspond to three groups of etiopathogenetic mechanisms (psycho-traumatic situations, personality characteristics, and disease aspects). An example of such an approach is the A. Maercker multifactorial concept [2]. In this concept, three main groups of factors, the combination of which causes PTSD, were deemed important:

- 1) Factors associated with a traumatic event, namely, injury severity, suddenness, and uncontrollability.

- 2) Protective mechanisms of coping, namely, the ability to comprehend the event and the presence of social support.

- 3) Risk factors, namely, age, negative past experience, history of mental disorders, intelligence level, and socioeconomic living conditions.

As one of the mechanisms, PTSD is considered a disorder of intrapsychic adaptation following exposure to combat psychological stress. Adaptation after exposure to psychological traumatic stress can develop depending on the situation, i.e., positive, negative, and mixed scenarios. Following an injury, the initial period of an acute emotional reaction to stress lasts for 1 month, and gradually, the severity of the primary experiences weakens and disappears completely. With positive adaptation, the gradual reconstruction of the destroyed inner world, system of basic life values, and connections with the environment occur based on constructive coping strategies. Positive assessments of the event are retained in the mind, and the resulting traumatic experience is perceived as having an unconditionally positive effect on later life.

Three main categories of the consequences of traumatic experience are positively assessed, namely, (1) these are changes in self-perception and self-esteem ("became stronger," "new opportunities appeared," and "I know what I stand for"), (2) changes in relationships with others ("began to understand people better" and "learned to appreciate friendship"), and (3) changes in the general philosophy of life and the ideological foundation of being ("learned the value of life," "learned to enjoy life," "learned to understand the complexity of life," etc.). Successfully overcoming the negative psychological consequences of traumatic experiences results in the personal growth of a participant in a traumatic situation. In this case, the positive coping strategy is action-oriented, i.e., involvement in active social activity and the use of acquired experience as a source of achievement motivation. In this case, the stress resistance of military personnel increases. With impaired adaptation, experiences gained are not processed, and painful memories are forced out of consciousness. The leading coping strategies are non-constructive behaviors, namely, avoidance, self-isolation, and self-accusation. Various clinical manifestations of PTSD emerge. Unconstructive coping strategies lead to a decrease in social contact and self-isolation and can be complicated by various forms of deviant behavior. In the violation of adaptation, incomplete mental processing of traumatic experience and the development of a complex of prenosological posttraumatic conditions occur, which can manifest as a decrease in working capacity, proneness to conflict, unsociability, and various complaints of deterioration in well-being. The stress resistance of a serviceman in this case is low [3–7].

MATERIALS AND METHODS

Combatants ($n = 40$), who performed special tasks >6 months ago, underwent a psychological examination (standardized interview, determination of the expert assessment of military personnel by unit commanders,

operator performance indicators, the Mississippi scale (MS) questionnaire, symptomatic neurotic disorder questionnaire, and quality-of-life questionnaire 12) and stress testing on the hardware–software complex (HSC) "Reacor" (NPKF Medicom MTD, Taganrog). During stress testing, participants were alternately presented with stress stimuli consisting of video and audio sequences on the monitor screen and headphones in accordance with a precompiled scenario. During stress testing, physiological parameters were recorded using four channels, namely, electrocardiogram (heart rate [HR], beats/min and respiratory arrhythmia of the heart [HR RAH], beats/min), respiratory recursion (RR), e.g., galvanic skin response (GSR), %; photoplethysmogram (systolic wave amplitude [SWA], pm).

RESULTS

The results of the cluster analysis in terms of MS indicators enabled identifying two groups of participants with significantly different cluster centers, where 16 people had 56.94 points and 24 had 40.3 points ($p < 0.000$). Thus, the PPTSD group accounted for 40% of all participants, whereas the rest of the servicemen were assigned to the control group (CG). PPTSD signs correlated with the manifestations of the neurotic register. Among neurotic manifestations, signs of somatovegetative disorder were found in 62.5% of cases; affective stressing in 50%, sleep disorders in 43.8% of cases, and anxiety–phobic disorder in 43.8% of cases. Military personnel with PPTSD signs also have a statistically significant decrease in the scores in the self-assessment of quality-of-life indicators such as general health, mental health, and social functioning. The negative correlation of quality-of-life indicators with PPTSD signs indicates that this disorder affects the quality of life. Results of expert assessment by unit commanders and operator performance were not significantly different between servicemen with and without PPTSD signs. Thus, PPTSD signs in healthy military combatants

reduce the self-assessment of the quality of life but do not have a noticeable effect on the professional aspect of social functioning in favorable conditions [8].

Analysis of the results of stress testing at the HSC "Reacor" revealed that none of the studied parameters (HR, HR RAH, RR, and GSR), except SWA, differed in the CG and PPTSD group. SWA, starting from the stage of audio stimulation, was statistically significantly lower in the PPTSD group and correlated negatively with the indicators of the MS technique (Fig. 1).

Thus, military combatants with PPTSD were established to present with altered physiological reactivity, manifested as a decrease in SWA. Apparently, it is caused by the narrowing of the peripheral vessels because the HR does not change. The results indicate a decrease in the threshold of sensitivity to stress in combatants with PPTSD signs, which under combat conditions can increase the frequency of violations, and mistakes, incorrect operational and tactical decisions, development of acute stress-induced mental disorders, demoralization of personnel, combat, and noncombat sanitary, irretrievable losses, and losses of military equipment and weapons.

Based on the results of the discriminant analysis, a method was developed for the psychophysiological diagnostics of PPTSD in healthy military combatants, based on linear classification functions (LCF) using SWA indicators obtained during stress testing. We present a technique of using the developed method on specific examples of several military combatants. We substitute the SWA indicators obtained during the stress testing at the HSC "Reacor" at the stages of rest, start, and finish (SWA_{start} , SWA_{rest} , SWA_{finish}) into the equations:

$$LCF1 = -1.13671 \times SWA_{rest} + 0.67812 \times SWA_{start} + 1.55106 \times SWA_{finish} - 1.91536;$$

$$LCF2 = 1.57987 \times SWA_{rest} - 0.48947 \times SWA_{start} + 0.08717 \times SWA_{finish} - 2.53516.$$

LCF1 and LCF2 values were determined, and if LCF1 is greater than LCF2, then the serviceman has PPTSD

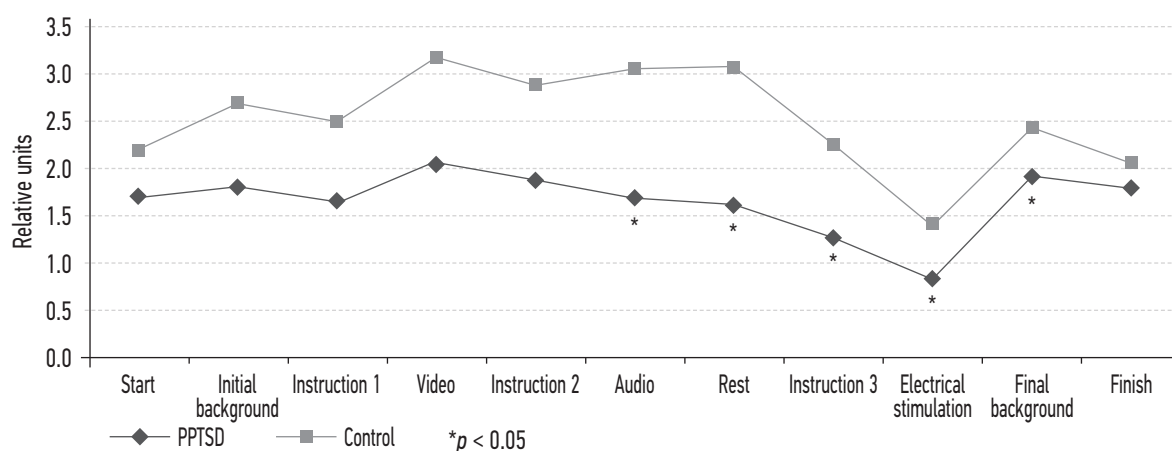


Fig. 1. Dynamics of SWA changes by stages of stress testing in military personnel with PPTSD and KF military personnel

signs, and if LCF2 is greater than LCF1, then he/she does not have them.

Example 1. According to the results of stress testing, serviceman N., who performed special tasks, had SWA_{rest} of 2.63 pm, SWA_{start} of 2.41 pm, and SWA_{finish} of 3.39 pm. These values were substituted into the equations for LCF, and LCF1 of 1.99 and LCF2 of 0.74 were obtained. LCF1 was greater than LCF2, which indicated that the serviceman had PTSD signs.

Example 2. According to the results of stress testing, Serviceman M., who performed special tasks, had SWA_{rest} of 0.85 pm, SWA_{start} of 0.96 pm, and SWA_{finish} of 0.89 pm. These values were substituted into the equations for LCF, and LCF1 of -0.85 and LCF2 of -1.58 were obtained. LCF1 was greater than LCF2, which indicated that the serviceman had PTSD signs.

Example 3. According to the results of stress testing, Serviceman L., who performed special tasks, had SWA_{rest} of 3.05 pm, SWA_{start} of 2.62 pm, and SWA_{finish} of 2.62 pm. These values were substituted into the equations for LCF, and LCF1 of 0.46 and LCF2 of 1.23 were obtained. LCF2 was greater than LCF1, which indicated that the serviceman had no PTSD signs.

The developed method was registered in the State Register of Inventions of the Russian Federation, and the Military Medical Academy received a patent for the invention dated June 24, 2019 [9]. In contrast to the currently generally accepted survey methods, this method enables objectifying the identification of PTSD signs.

CONCLUSION

HSC Reacor is a research tool not suitable for mass screening because it requires rapid assessment in a short

time. However, at present, psychophysiological software systems are becoming more portable, convenient, and affordable. Wireless data collection, various computing platforms, including portable ones, such as laptops or mobile phones, open up broad prospects for the use of the developed method in the interests of psychological and psychiatric intelligence, which is aimed at, within medical intelligence, the prediction of the possible consequences and dynamics of the situation for planning and organization of psychological and psychiatric care under special operations.

In the continuum of modern trends, this study is in the automation of psychological and psychophysiological methods for diagnosing pre-nosological and adverse functional conditions of military personnel to create high-tech devices and equipment with artificial intelligence components that can process large amounts of data and enable remote express diagnostics and forecasting of the state and behavior under combat conditions and assess the risk of neuropsychic breakdowns and behavioral deviations.

ADDITIONAL INFORMATION

Funding. The study had no external funding.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Ethical considerations. The study was approved by the local ethics committee of the S.M. Kirov Military Medical Academy, Ministry of Defense of the Russian Federation.

Author contributions. All authors made a significant contribution to the study and preparation of the article, read, and approved the final version before its publication.

REFERENCES

1. Shamrey VK, ed. *Psychiatry of wars and disasters*. Saint Petersburg: SpetsLit Publisher; 2015. 431 p. (In Russ.)
2. Maercker A, Schützwohl M, Solomon Z, eds. *Post-traumatic stress disorder: a lifespan developmental perspective*. Seattle: Hogrefe&Huber; 2008.
3. Lazebnaya EO. Overcoming the psychological consequences of exposure to extreme (traumatic) stress: post-traumatic stress adaptation. In: Dikaya LG, Zhuravlev AL, eds. *Psychology of adaptation and social environment: modern approaches, problems, prospects*. Moscow: Institute psihologii RAN Publishing House; 2007. P. 561–575. (In Russ.)
4. Mattson E, James L, Engdahl B. Personality factors and their impact on PTSD and post-traumatic growth is mediated by coping style among OIF/OEF veterans. *Mil Med*. 2018;183(9–10):e475–e480. DOI: 10.1093/milmed/usx201
5. Murphy D, Palmer E, Lock R, Busuttil W. Post-traumatic growth among the UK veterans following treatment for post-traumatic stress disorder. *J R Army Med Corps*. 2017;163(2):140–145. DOI: 10.1136/jramc-2016-000638
6. Schubert CF, Schmidt U, Rosner R. Posttraumatic growth in populations with posttraumatic stress disorder – a systematic review on growth-related psychological constructs and biological variables. *Clin Psychol Psychother*. 2016;23(6):469–486. DOI: 10.1002/cpp.1985
7. Tsai J, El-Gabalawy R, Sledge WH, et al. Post-traumatic growth among veterans in the USA: results from the National Health and Resilience in Veterans Study. *Psychol Med*. 2015;45(1):165–179. DOI: 10.1017/s0033291714001202
8. Zelenina NV, Nazarov SS, Marchenko AA, et al. Features of adaptation after psychological traumatic stress among servicemen who performed special tasks. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2018;(3(63)): 153–158. (In Russ.)
9. Patent № RU2692454 C1 Russian Federation, MPK A61V 5/00 (2006.01). A method for psychophysiological diagnosis of individual signs of chronic post-traumatic stress disorder in military combatants [Text] / Zelenina NV, Nazarov SS, Marchenko AA, et al.; Published on 24.06.2019, BI № 18. (In Russ.)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Психиатрия войн и катастроф / Под ред. В.К. Шамрея. СПб.: СпецЛит, 2015. 431 с.
2. Maercker A., Schützwohl M., Solomon Z., eds. Post-traumatic stress disorder: a lifespan developmental perspective. Seattle: Hogrefe&Huber, 2008.
3. Лазебная Е.О. Преодоление психологических последствий воздействия экстремального (травматического) стресса: посттравматическая стрессовая адаптация. В кн.: Психология адаптации и социальная среда: современные подходы, проблемы, перспективы / Под ред. Л.Г. Дикой, А.Л. Журавлева. М.: Институт психологии РАН, 2007. С. 561–575.
4. Mattson E., James L., Engdahl B. Personality factors and their impact on PTSD and post-traumatic growth is mediated by coping style among OIF/OEF veterans // *Mil. Med.* 2018. Vol. 183, No. 9–10. P. e475–e480. DOI: 10.1093/milmed/usx201
5. Murphy D., Palmer E., Lock R., Busuttill W. Post-traumatic growth among the UK veterans following treatment for post-traumatic stress disorder // *J. R. Army Med. Corps.* 2017. Vol. 163, No. 2. P. 140–145. DOI: 10.1136/jramc-2016-000638
6. Schubert C.F., Schmidt U., Rosner R. Posttraumatic growth in populations with posttraumatic stress disorder — a systematic review on growth-related psychological constructs and biological variables // *Clin. Psychol. Psychother.* 2016. Vol. 23, No. 6. P. 469–486.
7. Tsai J., El-Gabalawy R., Sledge W.H., et al. Post-traumatic growth among veterans in the USA: results from the National Health and Resilience in Veterans Study // *Psychol. Med.* 2015. Vol. 45, No. 1. P. 165–179. DOI: 10.1017/s0033291714001202
8. Зеленина Н.В., Назаров С.С., Марченко А.А., и др. Особенности адаптации после психического травматического стресса у военнослужащих, выполнявших специальные задачи // *Вестник Российской Военно-медицинской академии.* 2018. № 3 (63). С. 153–158.
9. Пат. № RU2692454 С1 Российская Федерация, МПК А61В 5/00 (2006.01). Способ психофизиологической диагностики отдельных признаков хронического посттравматического стрессового расстройства у военнослужащих-комбатантов [Текст] / Зеленина Н.В., Назаров С.С., Марченко А.А., и др.; опубл. 24.06.2019, БИ № 18.

AUTHORS' INFO

Evgeniy A. Chernyavskiy, M.D., major of medical service, adjunct; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1097-2749>; eLibrary SPIN: 9674-3636; Author ID: 873187; e-mail: cherskij@list.ru

***Natalya V. Zelenina**, Ph.D. (Biology), Associate Professor; address: 6, Akademika Lebedeva str., Saint Petersburg, 194044, Russia; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8130-7690>; Scopus Author ID: 6701602986; eLibrary SPIN: 1173-1255; Author ID: 326460; e-mail: zelnatvas@mail.ru

Vladislav V. Yusupov, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5236-8419>; Scopus Author ID: 57177317400; eLibrary SPIN: 9042-3320; Author ID: 787045; e-mail: vmed_37@mil.ru

Anton V. Grigorov, Colonel, Deputy Head of the Military Medical Academy, chairman of the attestation commission of the academy

ОБ АВТОРАХ

Евгений Александрович Чернявский, майор мед. службы, адъюнкт; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1097-2749>; eLibrary SPIN: 9674-3636; Author ID: 873187; e-mail: cherskij@list.ru

***Наталья Васильевна Зеленина**, канд. биол. наук, доцент; адрес: Россия, 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8130-7690>; Scopus Author ID: 6701602986; eLibrary SPIN: 1173-1255; Author ID: 326460; e-mail: zelnatvas@mail.ru

Владислав Викторович Юсупов, докт. мед. наук, профессор; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5236-8419>; Scopus Author ID: 57177317400; eLibrary SPIN: 9042-3320; Author ID: 787045; e-mail: vmed_37@mil.ru

Антон Владимирович Григоров, полковник, заместитель начальника Военно-медицинской академии, председатель аттестационной комиссии академии

* Corresponding author / Автор, ответственный за переписку

УДК 57.085.23

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar104363>

Научная статья

Получение и культивирование мультипотентных мезенхимальных клеток стромы пуповины человека в лабораторном эксперименте

В.Е. Чернов, М.О. Соколова, А.К. Иванова, А.С. Бунтовская, Е.И. Корешова, А.Е. Трандина, А.С. Фрумкина, О.Н. Харкевич

Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия

Актуальность. Вартонов студень пуповины человека является одним из источников мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток. Популяция клеток, полученная из послеродового биоматериала, характеризуется высокими пролиферативными и регенераторными свойствами. Выделение культуры мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток из пуповины не представляет угрозы здоровью и жизни донора.

Цель — оптимизация условий для получения воспроизводимой популяции мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток Вартонова студня пуповины человека для применения в клеточных технологиях, тканевой инженерии и перспективных технологиях военной медицины.

Материалы и методы. В исследовании апробированы основные приемы и методы выделения культуры клеток стромы пуповины, проведена оптимизация процесса культивирования для повышения его эффективности и сокращения сроков нарастания биомассы клеток. Исследовано влияние компонентов питательной среды на клетки, полученные из Вартонова студня пуповины человека. В настоящее время не существует универсального состава ростовой среды, в различных исследованиях используются питательные среды от разных производителей, отличающиеся составом. Наиболее обсуждаемым вопросом является подбор сыворотки, входящей в состав питательной среды.

Результаты. В работе проведена сравнительная оценка пяти различных сывороток. Показано, что наиболее стабильные физиологические показатели наблюдаются у образцов суспензии клеток при добавлении сывороток FBS (SKPK, Россия) и FBS (Capricorn, США). Исследование влияния гипоксии на культуру клеток в сочетании с наиболее эффективными сыворотками, показало, что гипоксический стресс действует как активатор первичной пролиферации клеток. Оценка влияния сыворотки и гипоксии на культуру клеток проводилась визуально при микроскопии, в зависимости от изменений морфологии клеток при культивировании и результатов тестирования действия сывороток по интенсивности дыхания свободных и иммобилизованных клеток при действии ингибиторов дыхательного метаболизма.

Заключение. В результате экспериментов установлено влияние типа сыворотки на инициацию экспансии клеток из первичных эксплантов и дальнейшую пролиферацию клеток *in vitro*. Гипоксия при экспозиции первичных эксплантов усиливает экспансию клеток из ткани фрагментов Вартонова студня.

Ключевые слова: Вартонов студень пуповины; клеточные технологии; клеточный метаболизм; культивирование мезенхимальных клеток; мультипотентные мезенхимальные клетки стромы; провизорные органы; эксплант.

Как цитировать:

Чернов В.Е., Соколова М.О., Иванова А.К., Бунтовская А.С., Корешова Е.И., Трандина А.Е., Фрумкина А.С., Харкевич О.Н. Получение и культивирование мультипотентных мезенхимальных клеток стромы пуповины человека в лабораторном эксперименте // Известия Российской Военно-медицинской академии. 2022. Т. 41. № 3. С. 283–291. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar104363>

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar104363>
Research Article

Initiation and cultivation of multipotent mesenchymal human umbilical stroma cells in a laboratory experiment

Vladimir E. Chernov, Margarita O. Sokolova, Anastasia K. Ivanova, Aleksandra S. Buntovskaya, Elena I. Koreshova, Aleksandra E. Trandina, Anna S. Frumkina, Ol'ga N. Kharkevich

Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

BACKGROUND: Wharton's jelly of the human umbilical cord is one of the sources of multipotent mesenchymal stromal cells. The cell population obtained from the postpartum biomaterial is characterized by high proliferative and regenerative properties. Isolation of a culture of multipotent mesenchymal stromal cells from the umbilical cord does not pose a threat to the health and life of the donor.

AIM: Optimization of the technique for isolating a reproducible population of multipotent mesenchymal stromal cells from Wharton's jelly is an urgent task in biomedicine, which can accelerate the process of obtaining donor cells for cell therapy and tissue engineering.

MATERIALS AND METHODS: In the study, the main techniques and methods for isolating the culture of umbilical cord stroma cells were tested, the cultivation process was optimized to increase its efficiency and reduce the time of growth of cell biomass. The effect of the components of the nutrient medium on the cells obtained from Wharton's jelly of the human umbilical cord was studied. Currently, there is no universal composition of the growth medium; in various studies, nutrient media from different manufacturers are used, which differ in composition. The most discussed issue is the selection of serum, which is part of the nutrient medium.

RESULTS: In the work, a comparative evaluation of five different sera was carried out. It has been shown that the most stable physiological parameters are observed in cell suspension samples with the addition of FBS (SKPK, Russia) and FBS (Capricorn, USA) sera. A study of the effect of hypoxia on cell culture in combination with the most effective sera showed that hypoxic stress acts as an activator of primary cell proliferation. The assessment of the effect of serum and hypoxia on cell culture was carried out visually using microscopy, assessment of changes in cell morphology during cultivation, and the results of testing the action of sera by the intensity of respiration of free and immobilized cells under the action of inhibitors.

CONCLUSION: As a result of the experiments, the influence of the type of serum on the initiation of cell expansion from primary explants and further cell proliferation *in vitro* was established. Hypoxia during exposure of primary explants enhances the expansion of cells from tissue fragments of Wharton's jelly tissue.

Keywords: cell metabolism; cell technology; explants; mesenchymal cell culture; multipotent mesenchymal stromal cells; provisional organs; Varton's umbilical cord jelly.

To cite this article:

Chernov VE, Sokolova MO, Ivanova AK, Buntovskaya AS, Koreshova EI, Trandina AE, Frumkina AS, Kharkevich ON. Initiation and cultivation of multipotent mesenchymal human umbilical stroma cells in a laboratory experiment. *Russian Military Medical Academy Reports*. 2022;41(3):283–291. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar104363>

Received: 02.03.2022

Accepted: 13.09.2022

Published: 30.09.2022

АКТУАЛЬНОСТЬ

Применение аллогенных клеточных продуктов в медицинской практике является перспективной областью биомедицины, нуждающейся в развитии быстрых и малоинвазивных способов получения донорских клеток. На сайте clinicaltrials.gov по состоянию на 2021 г. зарегистрировано 10 781 зарубежное исследование, касающееся применения в медицинской практике мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК). При этом значительная их доля посвящена изучению потенциала применения ММСК пуповины при различных заболеваниях. Провизорные органы как внеэмбриональные структуры после рождения ребенка утрачивают свою значимость и в то же время представляют ценность как источник для получения культуры ММСК *in vitro*, обладающий высоким пролиферативным и регенераторным потенциалом, а также простотой, неинвазивностью и невысокой затратностью получения.

В ряде публикаций сообщается о слабой иммуногенной активности тканей пуповины человека, некоторыми исследованиями была продемонстрирована успешность применения ММСК пуповины при различных заболеваниях [1]. Было показано, что ММСК, полученные из Вартонова студня пуповины, безопасны в применении и обладают значительным противовоспалительным эффектом [2]. Например, применение их при диабетической нефропатии задерживало прогрессирование заболевания и оказывало репаративное воздействие на поврежденные ткани и функцию почек¹. Подчеркивается также успешность применения ММСК пуповины при лечении остеоартрита [3]. Результаты этих исследований свидетельствуют об актуальности дальнейшей разработки протоколов получения ММСК Вартонова студня пуповины человека для применения их как компонента биомедицинских клеточных продуктов и тканеинженерных конструкций [4].

Методика получения ММСК Вартонова студня пуповины в настоящее время не имеет строгого регламента, поэтому существует необходимость оптимизации ее таким образом, чтобы высокий уровень продукции клеточного материала воспроизводился при каждой эксплантации. Представленные в литературе данные о способах выделения клеток из тканей пуповины человека многообразны, в связи с чем существует необходимость их систематизации и выбора оптимальных вариантов лабораторных и технологических решений для воспроизводимого культивирования ММСК [5]. Помимо процедуры выделения клеток для последующего увеличения популяции требуется оптимизация условий культивирования, оценки качества и жизнеспособности полученных клеток. Среди методов, позволяющих стимулировать миграцию клеток

из эксплантов и их пролиферацию в культуре *in vitro*, используют гипоксический стресс при первичной эксплантации [6]. Применяют увеличение процента содержания сыворотки в ростовой среде для культивирования и различные составы ростовых сред [7]. Свойства сыворотки, используемой как компонент ростовой среды, в силу множества факторов, влияющих на ее состав при производстве, могут значительно отличаться, что отражается на результате получения первичной культуры клеток [8]. В последние годы применяется замещение фетальной сыворотки крови животных аутологичной сывороткой пациента или применение бессывороточных сред. Такие методы снижают продуктивность процесса культивирования, но являются предпочтительными для клеточной терапии [9]. Одним из методов оценки влияния компонентов питательных сред на жизнеспособность клеток и динамику физиологических процессов в культуре ткани используют измерение интенсивности дыхания. [10]. Изменение интенсивности дыхания (выделения O_2) или гликолиза (образования CO_2), индуцируемое компонентами питательной среды, может быть инструментально измерено и является зависимым от дозы изменяемого компонента [11].

Следует отметить, что при работе с тканевыми эксплантами *in vitro* есть вероятность миграции из фрагмента ткани клеток других типов, не характерных для ткани выбранного экспланта. Это могут быть эндотелиальные, гладкомышечные клетки стенки сосудов, способные к адгезии клетки крови, не имеющие паракринной активности ММСК и несущие на своей поверхности специфические молекулы гистосовместимости [12]. Это создает препятствие к применению аллогенных клеток и предполагает необходимость иммунофенотипирования полученной популяции. Наличие поддерживающих функций внеклеточного матрикса, а также высвобождение факторов роста из тканевого экспланта оказывают стимулирующее воздействие на продуктивность культивирования клеток [13].

Целью нашей работы была оптимизация условий для получения воспроизводимой популяции ММСК Вартонова студня пуповины человека для применения в клеточных технологиях, тканевой инженерии и перспективных технологиях военной медицины.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Ткань пуповины получали от 6 здоровых доноров в возрасте 25–35 лет после получения информированного согласия при операции планового кесарева сечения на основании заключения этического комитета № 230 от 17.12.2019 г. Полученные образцы немедленно транспортировали в лабораторию в стерильном физиологическом растворе. Для эксплантации отбирали участки Вартонова студня без сосудов и фрагментов амниотической мембраны пуповины. Экспланты высевали в культуральные флаконы площадью 25 см² и культивировали до формирования монослоя в течение 21 сут в ростовой

¹ Clinical Research of UC-MSCs in the Treatment of Diabetic Nephropathy (UC-MSCs) Identifier: NCT04562025 [Electronic resource]. – URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04562025> (date of treatment: 24.09.2020).

Таблица 1. Сыворотки, использованные в эксперименте для культивирования клеток пуповины

№ п/п	Сыворотка	Сокращенное название	Производитель
1	Fetal Bovine Serum	FBS _G	Gibco, США
2	Fetal Bovine Serum	FBS _{HC}	HyClone, США
3	Fetal Bovine Serum	FBS _C	Capricorn, США
4	Сыворотка крупного рогатого скота	KPC	Биолот, Россия
5	Fetal Bovine Serum SKPK	FBS _S	Биолот, Россия

среде, состоящей из DMEM F/12 с добавлением 10 % сыворотки KPC (Биолот, Россия) ($n = 6$), 10 % фетальной сыворотки FBS (Gibco, США) ($n = 6$), 10 % фетальной сыворотки FBS (Capricorn, Германия) ($n = 6$). Для оценки влияния сывороток на митохондриальное дыхание клеток использовали также среду с фетальными сыворотками FBS (HyClone, США) ($n = 6$) и FBS (SKPK, Россия) ($n = 6$) в 10 % концентрации. Список сывороток, использованных в экспериментах, приведен в табл. 1.

Культуру клеток культивировали при температуре 37 °C, содержании 5 % CO₂ в атмосфере инкубатора и относительной влажности 95 %. Неполную (30–50 %) замену ростовой среды производили каждые 3–4 сут. Интенсивность роста популяции клеток оценивали визуально при помощи инвертированного микроскопа Primovert (Carl Zeiss, Германия). При формировании монослоя клетки снимали смесью трипсина-Версена в соотношении 1 : 3 и подсчитывали число клеток вручную и на автоматическом счетчике клеток TC20 (BioRad, США).

Иммунофенотипирование полученной культуры не проводили. Для исключения вероятности преимущественного прорастания остаточных гладкомышечных клеток сосудов пуповины популяцию клеток 1 пассажа иммуноцитохимически окрашивали на наличие гладкомышечного актина (α -smooth muscle actin) (Sigma, Япония). Препараты фиксировали смесью ацетона и этилового спирта в соотношении 1 : 1, первичные антитела наносили на препараты в разведении 1 : 500 и инкубировали в течение ночи при температуре +4 °C во влажной камере. Применяли вторичные антитела, конъюгированные с флуорохромом AlexaFluor 488 (Abcam, Англия), ядра докрашивали средой для заключения препаратов SlowFade Glass Soft-set Antifade Mountant с DAPI Nuclear (Invitrogen, США). Наблюдения проводили на конфокальном микроскопе LSM 880 (Carl Zeiss, Германия). Флуоресценцию возбуждали лазером с длиной волны 405 нм, детекцией 410–495 нм и аргоновым лазером с длиной волны 488 нм, детекцией 495–605 нм.

Для оценки активности действия фетальных сывороток в ростовой среде был поставлен эксперимент по измерению интенсивности митохондриального дыхания клеток при воздействии четырех фетальных сывороток, применяемых в наших экспериментах. Тип и происхождение сывороток приведены в табл. 1. При этом действие сыворотки KPC в эксперименте с оценкой интенсивности

дыхания не исследовалось, поскольку роста клеток на среде с этой сывороткой не наблюдалось. Интенсивность дыхания суспензии клеток, полученных из пуповины, при воздействии стрессовых факторов — блокаторов дыхания: олигомицина, антимицина А и FCCP (карбонил цианид-п-(трифторметокси) фенилгидразон) — оценивали по скорости поглощения кислорода, которую вычисляли по динамике изменения концентрации растворенного O₂ в ростовой среде, содержащей 10 % сывороток, указанных в табл. 1.

1. Измерения осуществляли на анализаторе клеточного метаболизма XFe 96 SeaHors (Agilent Technologies, США) в соответствии с инструкцией производителя. Для оценки влияния компонентов питательной среды на жизнеспособность и интенсивность митохондриального дыхания популяции клеток пуповины применялись 4 различные сыворотки: FBS_G, FBS_{HC}, FBS_S, FBS_C. Сыворотка KPC при этом не использовалась.

2. Результаты, полученные при первичной эксплантации фрагментов Вартонова студня, сравнивали после вычисления ошибки процента [14]. Статистическая обработка и представление результатов интенсивности дыхания производились при помощи встроенных программ анализатора SeaHors автоматически в процессе работы прибора.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Начало миграции одиночных клеток из эксплантов во всех экспериментальных группах отмечали на 6-е сут после эксплантации. Наиболее активный рост выявлялся в фрагментах, захватывающих периферические участки ткани, прилегающие к стенке пуповины (рис. 1). Эксплантация ткани Вартонова студня периферической части сосудов не приводила к формированию монослоя в культуре. В течение эксперимента отмечали появление в культуральных флаконах взвеси вследствие постепенного разрушения коллагенового матрикса эксплантов.

В течение эксперимента не было получено 100 % эффективности прорастания очага клеток от каждого экспланта ткани пуповины во всех опытных группах. Данные о частоте прорастания эксплантов и количестве клеток, полученных на 21-е сут культивирования, представлены в табл. 2.

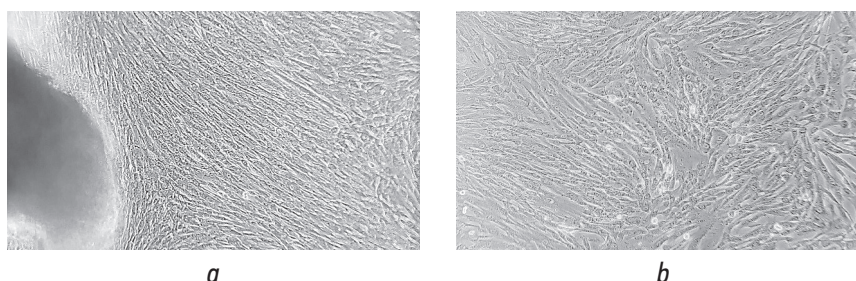


Рис. 1. Клетки пуповины, полученные от экспланта на 21-е сут культивирования. Инвертированная микроскопия, увеличение $\times 100$ (a), $\times 200$ (b)

Таблица 2. Результаты культивирования клеток пуповины на ростовых средах, содержащих различные сыворотки

Признак	Вариант сыворотки		
	КРС, Биолот	FBS _G , Gibco	FBS _C , Capricorn
Морфология клеток	Эпителиоподобная с преобладанием цитоплазмы	Фибробластная	Фибробластная
Формирование монослоя	–	+	+
Общее количество эксплантов, ед.	36	36	72
Количество эксплантов с пролиферацией, ед	0	6	13
Эффективность пролиферации, %	0	$16,67 \pm 6,127$	$18,06 \pm 4,534$
Общее количество клеток, кл/мл	Единичные клетки	$7,07 \times 10^4$	$8,43 \times 10^5$
Выживаемость клеток, %	–	$69 \pm 0,0303$	$95 \pm 0,0237$

В течение эксперимента отмечали появление полиморфных клеточных колоний. При использовании сыворотки КРС монослойной культуры при эксплантации клеток пуповины человека получено не было, наблюдали одиночные эпителиоподобные клетки с преобладанием цитоплазмы в ядерно-цитоплазматическом соотношении. При использовании фетальных сывороток FBS_G и FBS_C отмечалось формирование монослоя и фибробластная морфология клеток, при этом наблюдали одинаковую частоту формирования зон роста вокруг эксплантов в присутствии каждой из сывороток в ростовой среде. В ходе эксперимента максимальное количество клеточного материала было получено при культивировании на ростовой среде, включающей сыворотку FBS_C, процент жизнеспособных клеток при этом был наиболее высоким и составил 95 % от общего числа учтенных клеток.

При тестировании сывороток по критерию оценки интенсивности дыхания свободных и иммобилизованных клеток установлено, что действие сывороток различного происхождения на состояние полученных клеток различается (рис. 2).

Максимально интенсивное базовое дыхание наблюдалось при нахождении суспензии клеток в ростовой среде, содержащей 10 % сыворотки FBS_{HC}. Наиболее стабильные показатели дыхания, как базового, так и при воздействии антибиотиков, блокирующих циклы дыхательного метаболизма, наблюдаются у образцов суспензии клеток

при воздействии сывороток FBS_S и FBS_C. Интенсивность дыхания суспензии клеток в ростовой среде, содержащей фетальную сыворотку производителя FBS_G, незначительно изменялась как при измерении базового дыхания, так и при воздействии блокаторов компонентов дыхательного метаболизма, оставаясь относительно стабильной в течение всего процесса измерения.

При иммуногистохимическом исследовании присутствия в цитоплазме α -smooth muscle actin не выявлено, отмечалось появление автофлуоресценции.

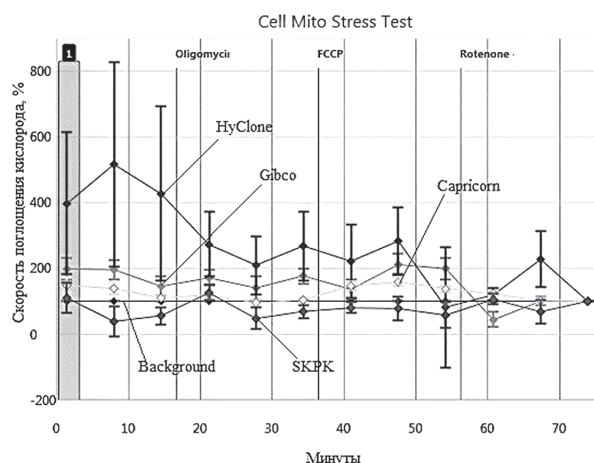


Рис. 2. Динамика интенсивности дыхания клеток пуповины при действии стрессовых факторов-блокаторов дыхания на фоне фетальных сывороток различного происхождения

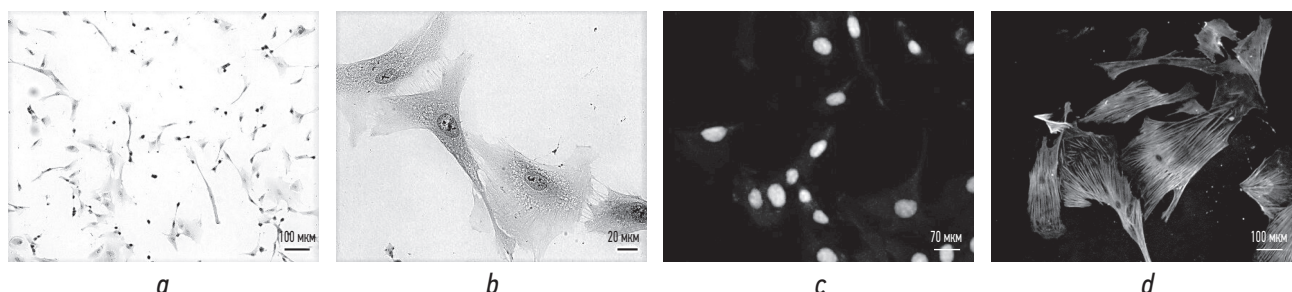


Рис. 3. Популяция клеток пуповины, полученная при использовании сыворотки FBSC. Окрашивание гематоксилином и эозином (a, b), иммуноцитохимическая реакция на гладкомышечный α -актин клеток, полученных из пуповины (c), миометрия (d)

Специфического окрашивания цитоскелета, характерного для гладкомышечных клеток, в исследуемых популяциях получено не было (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

Получение первичной культуры ММСК Вартонова студня пуповины человека сопряжено с рядом трудностей. В настоящее время не существует универсального состава ростовой среды, в различных исследованиях используются питательные среды от разных производителей, отличающиеся составом. Наиболее обсуждаемым вопросом является подбор сыворотки, входящей в состав питательной среды. Концентрация и тип сыворотки, применяемой как компонент ростовой среды, является одним из ключевых факторов, поддерживающих рост клеток. В различных исследованиях используются питательные среды от разных производителей, отличающиеся составом. В ходе работы было установлено влияние применяемой сыворотки на скорость и плотность формирования колоний вокруг эксплантов. Сыворотка, полученная из крови взрослого животного (КРС), не инициировала индукцию пролиферации и миграции клеток при эксплантации фрагментов ткани пуповины, и монослойной культуры клеток в течение эксперимента получено не было. Это можно объяснить отсутствием в сыворотке крови взрослого животного факторов, способствующих миграции клеток из экспланта [6]. В присутствии фетальных сывороток происходил очаговый рост вокруг эксплантов, однако уровень продукции клеточного материала спустя 21 сут культивирования существенно различался. В литературе имеются данные о том, что свойства фетальных сывороток различных производителей могут значительно варьировать [7]. В нашем эксперименте присутствие FBS_c в ростовой среде стимулировало максимальную пролиферацию новых клеток. Во всех группах в течение эксперимента в ростовой среде отмечалось умеренное количество взвеси, представленной фрагментами внеклеточного матрикса пуповины. Также известно, что присутствие фрагментов разрушающегося коллагена и протеогликанов в культуре способно выступать в роли проапоптотических индукторов, снижающих темп роста популяции [5, 12]. При незапланированной эксплантации

фрагментов сосудов пуповины, периодически происходившей в ходе экспериментов, формирования колоний вокруг экспланта не наблюдалось, регистрировалась адгезия лишь одиночных клеток. Эксплантация фрагментов ткани Вартонова студня, граничащих со стенками пуповины, приводила к формированию крупных колоний при интенсивной пролиферации клеток. Отсутствие иммунной реакции с маркером α -smooth muscle actin, являющимся специфическим маркером цитоскелета гладкомышечных клеток, в том числе миофибробластов и гладкомышечных клеток сосудов, характеризующихся быстрой пролиферацией в культуре *in vitro*, позволило предположить принадлежность полученной популяции к мезенхимальным клеткам с интенсивным ростом. Полученные в этом эксперименте результаты соотносятся с данными других литературных источников, в которых отмечается, что свойства сыворотки, используемой как один из основных компонентов ростовой среды, могут значительно отличаться, что отражается на результате получения первичной культуры клеток [7].

Морфологический анализ колоний, формируемых вокруг эксплантов, демонстрировал отличия в фенотипе клеток на 21-е сут культивирования. При использовании фетальных сывороток преобладала фибробластная морфология, при использовании сыворотки крови взрослого животного — эпителиоидная, с преобладанием цитоплазмы в ядерно-цитоплазматическом соотношении. Оценка интенсивности митохондриального дыхания клеток при присутствии в ростовой среде различных сывороток позволила получить информацию о состоянии жизнеспособности клеток, находящейся в прямой зависимости от уровня поглощения кислорода их популяцией. Анализ интенсивности потребления кислорода суспензией клеток показал, что наиболее интенсивное базовое дыхание наблюдается у суспензии клеток при воздействии сыворотки FBS_{HC}. Наиболее стабильные показатели дыхания как базового, так и при воздействии антибиотиков, блокирующих циклы дыхательного метаболизма, наблюдались у образцов суспензии клеток при воздействии фетальных сывороток FBS_c и FBS_c. Результаты, полученные при оценке интенсивности дыхания клеток, позволяют разделить сыворотки в зависимости от их воздействия на интенсивность дыхания на три группы: сыворотка, усиливающая интенсивность базового дыхания (FBS_{HC}); сыворотки,

поддерживающие стабильную интенсивность как базового дыхания, так и поглощения кислорода при действии блокаторов дыхательных циклов (FBS_6 ; FBS_7), и сыворотка, угнетающая базовое дыхание (FBS_5). Монослойные, хорошо растущие клеточные культуры были получены в присутствии в ростовой среде сывороток, при действии которых интенсивность дыхания менялась слабо, а сыворотка, усиливающая базовое дыхание, стимулировала экспансию клеток из эксплантов, но снижала интенсивность дальнейшего роста культуры. Эти результаты позволяют считать, что воздействие, оказываемое компонентами различных сывороток, различающихся происхождением, способно стимулировать миграцию и пролиферацию клеток пуповины при получении первичной культуры. Но для оптимизации состава питательных сред, выбора оптимальной сыворотки, а также для большей эффективности процессов экспансии и сохранения жизнеспособности полученных клеток необходимо продолжение экспериментов. Известно, что усиление интенсивности дыхания связано с интенсивностью действия факторов, вызывающих реакцию стресса клеток [15]. Применение метода измерения интенсивности митохондриального дыхания позволяет дать оценку устойчивости дыхания клеток при воздействии суммы компонентов сывороток в сравнении с действием стрессовых факторов, блокаторов циклов дыхательного метаболизма. Возможно, это позволит с большей эффективностью выбирать компоненты питательных сред и прогнозировать жизнеспособность клеток в течение эксперимента.

Продуктивность получения культуры клеток Вартонова студня пуповины характеризуется некоторыми закономерностями. Во-первых, умеренное присутствие факторов стресса, таких как гипоксия, положительно влияет на скорость миграции клеток из экспланта и продуктивность культивирования. Во-вторых, существует определенная зависимость от типа и качества сыворотки, применяемой при культивировании клеток [14]. В результате работы апробирован протокол воспроизводимого получения культуры МСК Вартонова студня пуповины человека, проведена оценка эффективности применения фетальных сывороток различных производителей, методом иммунофенотипирования исключена вероятность пролиферации гладкомышечных клеток сосудов при эксплантации фрагментов Вартонова студня пуповины человека. Гипоксия положительно влияет на скорость миграции клеток из экспланта и продуктивность культивирования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Калужная Л.И., Харкевич О.Н., Шмидт А.А., Протасов О.В. Регенераторные свойства внеэмбриональных органов человека в тканевой инженерии // Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2018. № 4. С. 192–198.
2. Третьяк С.И., Жура А.В., Хрыщанович В.Я., и др. Влияние аллогенных мезенхимальных стволовых клеток на воспалительную

Выводы. 1. Кратковременная гипоксия влияет на эффективность миграции клеток из эксплантата. 2. Сыворотки различного происхождения оказывают различное действие на интенсивность митохондриального дыхания мезенхимальных, клеток полученных из пуповины человека. 3. Наиболее эффективной сывороткой из изученных является фетальная сыворотка Capricorn (FBS_7).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В исследовании апробированы основные приемы и методы получения культуры мезенхимальных клеток пуповины человека, проведена оптимизация условий получения воспроизводимой популяции клеток Вартонова студня пуповины. Установлено, что кратковременная гипоксия и тип сыворотки, используемой как компонент ростовой среды, оказывают влияние на скорость и продуктивность роста популяции. Метод измерения митохондриального дыхания может быть использован для оценки действия сывороток, применяемых как компонент питательной среды для культуры клеток пуповины.

Применение аллогенных клеточных продуктов в медицинской практике является перспективной областью биомедицины, нуждающейся в развитии быстрых и малоинвазивных способов получения донорских клеток. Первичная культура ММСК, получаемая из провизорных органов, представляет ценность как клеточный материал, обладающий высоким пролиферативным и регенераторным потенциалом, а также характеризующийся простотой, неинвазивностью и невысокой затратностью получения.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках научно-исследовательской работы «Эксплант».

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

Этическая экспертиза. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ (протокол № 230 от 17.12.2019 г.).

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

реакцию при травме париетальной брюшины в эксперименте // Медицинский журнал. 2018. № 4. С. 99–104.

3. Matas J., Orrego M., Amenabar D., et al. Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stromal Cells (MSCs) for Knee Osteoarthritis: Repeated MSC Dosing Is Superior to a Single MSC Dose and to Hyaluronic Acid in a Controlled Randomized Phase I/II

Trial // *Stem Cells Transl. Med.* 2019. Vol. 8, No. 3. P. 215–224. DOI: 10.1002/sctm.18-0053

4. Александров В.Н., Камилова Т.А., Мартынов Б.В., Калужная Л.И. Клеточная терапия при ишемическом инсульте // *Вестник Российской Военно-медицинской академии*. 2013. Т. 3, № 43. С. 199–205.

5. Шаманская Т.В., Осипова Е.Ю., Румянцев С.А. Технологии культивирования мезенхимальных стволовых клеток *ex vivo* для клинического использования // *Онкогематология*. 2009. № 3. С. 69–76.

6. Galluzzi L., Yamazaki T., Kroemer G. Linking cellular stress responses to systemic homeostasis // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2018. Vol. 19, No. 11. P. 731–745. DOI: 10.1038/s41580-018-0068-0

7. Lee J.-S., Kim S.K., Jung B.-J., et al. Enhancing proliferation and optimizing the culture condition for human bone marrow stromal cells using hypoxia and fibroblast growth factor-2 // *Stem Cells Research*. 2018. Vol. 28. P. 87–95. DOI: 10.1016/j.scr.2018.01.010

8. Зорин В.Л., Копнин П.Б., Зорина А.И., и др. Оптимизация условий получения и ведения культур фибробластов кожи и десны человека // *Гены & Клетки*. 2014. Т. 9, № 2. С. 53–60.

9. Nakamura T., Shirouzu T., Nakata K., Ushigome H. The Role of Major Histocompatibility Complex in Organ Transplantation- Donor Specific Anti-Major Histocompatibility Complex Antibodies Analy-

sis Goes to the Next Stage // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. Vol. 20, No. 18. Art. 4544. DOI: 10.3390/ijms20184544

10. Бидей С.П., Броделиус П., Кабрал И.М., и др. Имобилизованные клетки и ферменты: Методы / Под ред. Дж. Вудворда; Перевод с англ. Е.В. Дайниченко, Г.П. Самохина; Под ред. И.В. Березина. М.: Мир, 1988. 215 с.

11. Конки Д., Эрба Э., Фрешни Р., и др. Культура животных клеток. Методы / Под ред. Р. Фрешни; Перевод с англ. М.А. Панова. М.: Мир, 1989. 332 с.

12. Hendijani F. Explant culture: An advantageous method for isolation of mesenchymal stem cells from human tissues // *Cell Prolif.* 2017. Vol. 50, No. 2. Art. e12334. DOI: 10.1111/cpr.12334

13. Резвова М.А., Овчаренко Е.А., Никишев П.А., и др. Перспективы использования триблок-сополимеров Sibs в кардиохирургии: *in vitro* и *in vivo* исследование в сравнении с ePTFE // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2019. Т. 21, № 4. С. 67–80.

14. Зайцев Г.Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. М.: Наука, 1984. 424 с.

15. Estrada J.C., Albo C., Benguria A., et al. Culture of human mesenchymal stem cells at low oxygen tension improves growth and genetic stability by activating glycolysis // *Cell Death Differ.* 2012. Vol. 19, No. 5. P. 743–755. DOI: 10.1038/cdd.2011.172

REFERENCES

1. Kalyuzhnaya LI, Kharkevich ON, Shmidt AA, Protasov OV. Regenerative properties of human extraembryonal organs in tissue engineering. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2018;(4):192–198. (In Russ.) DOI: 10.17816/brmma12359

2. Tretyak SI, Zhura AV, Khryshchanovich VYa, et al. The influence of allogeneic stem cells to inflammatory response in peritoneum injury in experiment. *Medical Journal*. 2018;(4):99–104. (In Russ.)

3. Matas J, Orrego M, Amenabar D, et al. Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stromal Cells (MSCs) for Knee Osteoarthritis: Repeated MSC Dosing Is Superior to a Single MSC Dose and to Hyaluronic Acid in a Controlled Randomized Phase I/II Trial. *Stem Cells Transl. Med.* 2019;8(3): 215–224. DOI: 10.1002/sctm.18-0053

4. Alexandrov VN, Kamilova TA, Martynov BV, Kalyuzhnaya LI. Cell therapy in ischemic stroke. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2013;3(43):199–205. (In Russ.)

5. Shamanskaya TV, Osipova EYu, Rumyantsev SA. Mesenchymal stem cells *ex vivo* cultivation technologies for clinical use. *Onkologematologiya*. 2009;(3):69–76. (In Russ.)

6. Galluzzi L, Yamazaki T, Kroemer G. Linking cellular stress responses to systemic homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2018; 19(11):731–745. DOI: 10.1038/s41580-018-0068-0

7. Lee J-S, Kim SK, Jung B-J, et al. Enhancing proliferation and optimizing the culture condition for human bone marrow stromal cells using hypoxia and fibroblast growth factor-2. *Stem Cells Research*. 2018;28:87–95. DOI: 10.1016/j.scr.2018.01.010

8. Zorin VL, Kopnin PB, Zorina AI, et al. Optimization of conditions of skin and gingival mucosa derived human fibroblasts

obtainment and cultivation. *Geny & Kletki*. 2014;9(2):53–60. (In Russ.)

9. Nakamura T, Shirouzu T, Nakata K, Ushigome H. The Role of Major Histocompatibility Complex in Organ Transplantation- Donor Specific Anti-Major Histocompatibility Complex Antibodies Analysis Goes to the Next Stage. *Int J Mol Sci.* 2019;20(18):4544. DOI: 10.3390/ijms20184544

10. Bidey SP, Brodelius P, Kabral IM, et al. *Immobilized Cells and Enzymes: A Practical Approach*. Woodward J., editor; Berezin IV, editor, Daynichenko EV, Samokhin GP, translated from English. Moscow: Mir Publisher; 1988. 215 p. (In Russ.)

11. Konki D, Erba E, Freshney R, et al. *Animal cell culture: A Practical Approach*. Freshney RI, editor; Panov MA, translated from English. Moscow: Mir Publisher; 1989. 332 p. (In Russ.)

12. Hendijani F. Explant culture: An advantageous method for isolation of mesenchymal stem cells from human tissues. *Cell Prolif.* 2017;50(2):e12334. DOI: 10.1111/cpr.12334

13. Rezvova MA, Ovcharenko EA, Nikishev PA, et al. The use of sibs triblock copolymers in cardiac surgery: *in vitro* and *in vivo* studies in comparison with eptfe. *Vestnik transplantologii i iskusstvennyh organov*. 2019;21(4):67–80. (In Russ.)

14. Zaicev GN. *Mathematical statistics in experimental botany*. Moscow: Nauka Publisher; 1984. 424 p. (In Russ.)

15. Estrada JC, Albo C, Benguria A, et al. Culture of human mesenchymal stem cells at low oxygen tension improves growth and genetic stability by activating glycolysis. *Cell Death Differ.* 2012;19(5): 743–755. DOI: 10.1038/cdd.2011.172

ОБ АВТОРАХ

Владимир Евгеньевич Чернов, старший научный сотрудник научно-исследовательского центра; eLibrary SPIN: 8315-1161; Author ID: 88918; e-mail: vechernov@mail.ru

***Маргарита Олеговна Соколова**, научный сотрудник научно-исследовательского центра; адрес: Россия, 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3457-4788>; eLibrary SPIN: 3683-6054; Author ID: 1016305; e-mail: sokolova.rita@gmail.com

Анастасия Константиновна Иванова, препаратор научно-исследовательского центра; eLibrary SPIN: 6804-1474; Author ID: 1155274; e-mail: fullmetal1999@mail.ru

Александра Сергеевна Бунтовская, врач клинической лабораторной диагностики научно-исследовательского центра; eLibrary SPIN: 5092-1833; Author ID: 887917; e-mail: sandrarebel@mail.ru

Елена Игоревна Корешова, врач клинической лабораторной диагностики научно-исследовательского центра; eLibrary SPIN: 5310-0605; Author ID: 1089008; e-mail: koreshova1993@mail.ru

Александра Евгеньевна Трандина, врач клинической лабораторной диагностики научно-исследовательского центра; eLibrary SPIN: 6089-3495; Author ID: 1089010; e-mail: sasha-trandina@rambler.ru

Анна Сергеевна Фрумкина, врач акушер-гинеколог кафедры акушерства и гинекологии; eLibrary SPIN: 5109-0579; Author ID: 1089372; e-mail: annafrumkin@mail.ru

Ольга Николаевна Харкевич, профессор кафедры акушерства и гинекологии; eLibrary SPIN: 7591-5730; Author ID: 845536; e-mail: kharkevich.olga@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

AUTHORS' INFO

Vladimir E. Chernov, Senior Researcher of Research Center; eLibrary SPIN: 8315-1161; Author ID: 88918; e-mail: vechernov@mail.ru

***Margarita O. Sokolova**, Researcher of Research Center; address: 6, Akademika Lebedeva str., Saint Petersburg, 194044, Russia; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3457-4788>; eLibrary SPIN: 3683-6054; Author ID: 1016305; e-mail: sokolova.rita@gmail.com

Anastasia K. Ivanova, Preparator of Research Center; eLibrary SPIN: 6804-1474; Author ID: 1155274; e-mail: fullmetal1999@mail.ru

Aleksandra S. Buntovskaya, M.D., doctor of clinical laboratory diagnostics of Research Center; eLibrary SPIN: 5092-1833; Author ID: 887917; e-mail: sandrarebel@mail.ru

Elena I. Koreshova, M.D., doctor of clinical laboratory diagnostics of Research Center; eLibrary SPIN: 5310-0605; Author ID: 1089008; e-mail: koreshova1993@mail.ru

Aleksandra E. Trandina, M.D., doctor of clinical laboratory diagnostics of Research Center; eLibrary SPIN: 6089-3495; Author ID: 1089010; e-mail: sasha-trandina@rambler.ru

Anna S. Frumkina, obstetrician-gynecologist of department of obstetrics and gynecology; eLibrary SPIN: 5109-0579; Author ID: 1089372; e-mail: annafrumkin@mail.ru

Ol'ga N. Kharkevich, M.D., Professor of Obstetrics and Gynecology Department; eLibrary SPIN: 7591-5730; Author ID: 845536; e-mail: kharkevich.olga@mail.ru

УДК 616-097.1

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar84029>

Научная статья

Направления совершенствования лабораторной диагностики социально значимых гемоконтактных вирусных инфекций в военно-медицинских организациях

Е.С. Орлова, Ю.И. Буланьков, А.А. Сечин

Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия

Представлены актуальность применения молекулярно-биологических методов диагностики ВИЧ-инфекции и гемоконтактных вирусных гепатитов в военно-медицинских организациях и опыт большинства зарубежных стран, активно использующих современные молекулярные методологии для диагностики инфекционных заболеваний. Показана перспективность использования альтернативного носителя биологического материала «сухой капли» сыворотки или плазмы для диагностики инфекций с применением экспресс-тестов и молекулярно-биологических методов, а также возможность проведения дистанционного диспансерного динамического наблюдения при социально значимых гемоконтактных вирусных инфекциях у военнослужащих.

Предлагается возможная схема лабораторного тестирования на ВИЧ-инфекцию с использованием в качестве экспертного метода полимеразной цепной реакции, а также тест-систем, позволяющих определять давность инфицирования, особенно в случаях с сомнительными результатами иммунного блоттинга.

Рассмотрены перспективные молекулярно-генетические методики для внедрения в лабораториях военно-медицинских организаций: «гнездовая» (nested) полимеразная цепная реакция, петлевая изотермическая амплификация (Loop mediated isothermal amplification), цифровая полимеразная цепная реакция, использование комбинированных тестов на основе полимеразной цепной реакции (масс-спектрометрический анализ ампликонов), секвенирование. Сформулированы основные направления совершенствования лабораторной диагностики социально значимых гемоконтактных вирусных инфекций в военно-медицинских организациях: оптимизация логистики преаналитического этапа диагностики с расширением спектра валидированных методов консервации и доставки проб в лаборатории (в т. ч. «сухая капля»); сокращение длительности аналитического этапа диагностики путем более широкого клинического использования экспресс-тестов и полимеразной цепной реакции (включая изотермический вариант); повышение чувствительности и специфичности методов серологической и молекулярной диагностики; совершенствование методологии валидации и интерпретации результатов лабораторной диагностики при обеспечении военно-врачебной экспертизы.

Ключевые слова: вирусный гепатит; ВИЧ-инфекция; иммунный блоттинг; иммуноферментный анализ; лабораторная диагностика; молекулярно-биологические методы; социально значимые заболевания; «сухая капля»; цифровая полимеразная цепная реакция.

Как цитировать:

Орлова Е.С., Буланьков Ю.И., Сечин А.А. Направления совершенствования лабораторной диагностики социально значимых гемоконтактных вирусных инфекций в военно-медицинских организациях // Известия Российской Военно-медицинской академии. 2022. Т. 41. № 3. С. 293–301. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar84029>

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar84029>
Research Article

Directions of the laboratory diagnostics improving of the socially significant hemocontact viral infections in the military medical organizations

Elena S. Orlova, Yuriy I. Bulan'kov, Aleksey A. Sechin

Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

In this study we have shown the relevance of the nucleic acid testing for the diagnosis of the human immunodeficiency virus infection and hemocontact viral hepatitis in the military medical organizations as well as the experience of majority of the foreign countries that actively apply modern molecular methodologies for the diagnosis of infectious diseases. The possibility of using the rapid tests, molecular biology techniques and an alternative carrier of the biological material — the “dry drop” method, the potential of this method of biological material preparation in infectious diseases diagnostics in case of laboratory remoteness and for follow-up observation of patients with socially significant hemocontact viral infections is shown.

New algorithm of human immunodeficiency virus infection laboratory testing using polymerase chain reaction as an expert test followed by methods of determination of recency of acquisition of human immunodeficiency virus antibodies especially in questionable laboratory result cases are proposed.

Promising molecular genetic methods for implementation in laboratories in military medical organizations such as nest-er-polymerase chain reaction, loop-mediated isothermal amplification, digital polymerase chain reaction, mass spectrometry of polymerase chain reaction — amplicons, Deoxyribonucleic acid sequence are observed. We have defined the main approaches to improve laboratory diagnostics of social significant hemocontact viral infections in military medical organizations: optimization of logistics of pre-analytical step with expansion of validated biomaterial samples storage and delivery methods (including “dry drop”); reduction in the duration of analytical phase through increase in the clinical use of polymerase chain reaction testing (including isothermic variant); improving the sensitivity and accuracy of serological and molecular diagnostics; development of validation methodology and laboratory tests results interpretation While ensuring military medical expertise. The necessity of specialists training in new diagnostics techniques and result interpretation, improving regulatory framework on examination and registration of human immunodeficiency virus positive military officers, determination of the legal status of cases with unfinished human immunodeficiency virus diagnostic process in order to ensure timely preventive and treatment care events and to objectify statistical recording of this category.

Keywords: dried blood spot; enzyme-linked immunosorbent assay; HIV infection; laboratory diagnostics; molecular genetic methods; PCR; socially significant diseases; viral hepatitis; Western blot.

To cite this article:

Orlova ES, Bulan'kov Yul, Sechin AA. Directions of the laboratory diagnostics improving of the socially significant hemocontact viral infections in the military medical organizations. *Russian Military Medical Academy Reports*. 2022;41(3):293–301. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar84029>

Received: 28.10.2021

Accepted: 10.01.2022

Published: 30.09.2022

АКТУАЛЬНОСТЬ

Социально значимые заболевания относятся к числу наиболее актуальных проблем современного здравоохранения и основных угроз для здоровья населения. Лабораторные методы исследования при диагностике инфекционных болезней играют ведущую, а в целом ряде клинических ситуаций решающую роль не только в диагностике, но и в определении конечного исхода заболевания.

В настоящее время перед специалистами стоят новые задачи по повышению надежности и репрезентативности методов диагностики и лечения социально значимых гемоконтактных вирусных инфекций (СЗГВИ), что во многом зависит от уровня информативности лабораторных методов исследования и расширения диагностических возможностей. Рациональное использование тест-систем на основе предложенных принципов на отдельных этапах обследования пациента позволяет избежать ненужных многократных исследований, поскольку использование комплексного подхода к диагностике и выбор высокочувствительных и специфичных тестов позволяют оперативно установить диагноз и активность процесса [1]. Сложившиеся алгоритмы лабораторной диагностики СЗГВИ формировались в отличных от современных клинико-эпидемиологических условиях и требуют совершенствования.

Цель — изучение возможности расширения показаний к сочетанному применению молекулярно-биологических методов и иммунохроматографических экспресс-тестов в алгоритмах лабораторной диагностики СЗГВИ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании использованы данные, представленные в открытых литературных источниках, выполнен системный анализ содержания нормативно-правовых актов Российской Федерации (РФ), Министерства здравоохранения РФ (МЗ РФ), Министерства обороны РФ (МО РФ), касающихся лабораторной диагностики СЗГВИ, данных лабораторных исследований, представленных в открытой печати и выполненных специалистами ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ (ВМедА) при проведении экспертной диагностики ВИЧ-инфекции у военнослужащих за период с 2010 по 2021 г. с использованием методов лабораторной диагностики (иммуноферментный анализ (ИФА), иммунный блоттинг (ИБ), молекулярно-биологический метод — полимеразная цепная реакция (ПЦР) в режиме реального времени).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Актуальность нашего исследования обусловлена тем, что проблема совершенствования профилактики и диагностики инфекционных заболеваний является

важнейшей в системе противоэпидемического обеспечения как населения в целом, так и военнослужащих Вооруженных сил (ВС) РФ [2, 3].

Задачи лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции можно подразделить на две категории: 1) эпидемиологические: оценка и установление диагноза ВИЧ-инфекции; 2) клинические: осуществление диспансерного динамического наблюдения за состоянием ВИЧ-инфицированного, мониторинг эффективности антиретровирусной терапии.

Основным документом на сегодняшний день, регламентирующим алгоритм лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции и гемоконтактных вирусных гепатитов, являются санитарные правила и нормы СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», введение которых расширило возможности использования молекулярно-генетических методов в качестве подтверждающих тестов. В рамках данного документа предписывается обязательное проведение анализа степени генетической близости штаммов ВИЧ путем «генотипирования и филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей в качестве дополнительного инструмента при проведении эпидемиологического расследования случаев ВИЧ-инфекции, предположительно связанных с оказанием медицинской помощи, или других сложных случаев».

За период с 2010 по 2020 г. среди биологических материалов, доставленных для проведения экспертной диагностики ВИЧ-инфекции у военнослужащих, от 11,1 до 24,3 % имели положительные результаты при определении антигена ВИЧ и антител с помощью диагностических тестов (ИФА и иммунохемилюминисцентный анализ (ИХЛА)) и отрицательные или сомнительные результаты в ИБ при определении антител к отдельным белкам ВИЧ. Биологический материал направлялся повторно в лабораторию экспертной диагностики ВИЧ-инфекции в ВМедА для выполнения референтных исследований в ИФА и экспертных исследований методом ИБ в течение последующих 6 мес. Антиретровирусная терапия (АРВТ) данным военнослужащим в период динамического диспансерного наблюдения (ДДН) не назначалась.

Интерпретация результатов в ИБ в зависимости от спектра определяемых антител к отдельным белкам вируса может быть разной: положительный, отрицательный и сомнительный. Два последних результата также не исключают инфицированность обследуемого, требуют дальнейшего ДДН и обследования в специализированных медицинских организациях, но не накладывают на ВИЧ-позитивного никаких юридических обязательств по снижению риска распространения инфекции. Скорость развития серопревалентности в ИБ от момента инфицирования различна и колеблется от 3 мес до 1 года в зависимости от различных причин [4]. Юридический статус такого пациента неясен. По нашим данным, доля пациентов, не возвращающихся для проведения подтверждающего

исследования в экспертные лаборатории МО РФ и центры по профилактике и борьбе со СПИД МЗ РФ, достигает 34 %.

С 2010 г. ПЦР в качестве референтного метода используется у детей первого года жизни (при перинатальном инфицировании), у взрослых данный метод в качестве референтного был рекомендован только с 2016 г. Но неясен статус ПЦР с точки зрения регистрации заболевания и проведения таких действий, как военно-врачебная комиссия (ВВК). При этом создаются проблемы, связанные с функциональным использованием военнослужащих разных родов и видов ВС с учетом возможных клинических проявлений заболевания, продолжением воздействия вредных факторов военного труда, снижением мобильности военнослужащего до окончания лабораторного обследования (в т. ч. карьерный рост).

Ситуации, требующие экстренного решения в плане назначения АРВТ в условиях военно-медицинских организаций (ВМО), встречаются нередко. Приведем два клинических примера.

Военнослужащий А., 2000 г. р., поступил в ВМО 23.01.2021 г. с диагнозом: инфекционный мононуклеоз. При исследовании 26.01.2021 г. сыворотки больного на наличие маркеров ВИЧ были получены положительные результаты, исследование методом ИБ, выполненное 28.01.2021 г., — результат сомнительный, получен следующий белковый профиль: р25, р34, р52, р 55, gp160. С целью уточнения диагноза ВИЧ-инфекции и обоснованности назначения АРВТ при острой ВИЧ-инфекции 02.02.2021 г. выполнено исследование методом ПЦР-диагностики — получен положительный результат. Положительный результат в повторном ИБ был получен только 11.02. 2021 г.

Военнослужащий Б. 1984 г. р., поступил в ВМО 20.02.2021 г. с диагнозом: постинфекционная астения. При исследовании 01.03.2021 г. сыворотки крови на наличие маркеров ВИЧ были получены положительные результаты; исследование методом ИБ, выполненное 04.03.2021 г., — сомнительный; получен следующий белковый спектр: р25, р55. С целью уточнения диагноза и обоснованного назначения АРВТ при острой ВИЧ-инфекции 10.03.2021 г. выполнено исследование методом ПЦР-диагностики — результат положительный. Положительный результат ИБ с полным белковым спектром получен 16.03.2021 г. Данному пациенту проводилось исследование с целью выяснения его вирусной нагрузки, которая на момент постановки диагноза составляла 1 030 819 копий/мл.

Согласно национальным нормативным актам уже на скрининговом этапе диагностики используются диагностические комбинированные Ag/Ат (антиген/антитело) тесты четвертого поколения. В обновленных рекомендациях не рассматривается вариант тестирования с помощью ИФА-систем третьего поколения [5, 6]. Исследование методом ПЦР в редакциях нормативных документов считается «рекомендованным». Правовой статус такого

термина неясен. В санитарных правилах и методических указаниях нет однозначных указаний на роль эпидемиологических рисков и клиники в процессе сокращения и ускорения лабораторной диагностики. Лабораторный диагностический алгоритм оторван от клинических проявлений иммунодефицита, поэтому искусственно затягивается и дорожает. В референс-лаборатории первично-положительная сыворотка исследуется повторно, при получении отрицательных результатов — дважды. При получении положительных результатов исследования в референс-лаборатории сыворотку исследуют в ИБ.

При применении метода ПЦР в качестве референтного метода диагностики ВИЧ для взрослого контингента возникают вопросы: 1) как трактовать результат экспертного исследования в следующих случаях: если имеют место эпидемиологические риски, но результат ИБ — отрицательный; 2) имеются клинические проявления ВИЧ-инфекции, но не хватает полного перечня белков оболочки ВИЧ для учета положительного результата в ИБ, особенно по сравнению с рекомендацией производителя тест-системы [7, 8]?

Возможность использования в качестве подтверждающего теста ПЦР в СанПиН 3.3686-21 определена следующим образом: «При необходимости сокращения сроков установления диагноза ВИЧ-инфекции и незамедлительного назначения АРВТ пациенту в качестве подтверждающего исследования вместо иммунного или линейного блота может быть проведено определение РНК ВИЧ молекулярно-биологическими методами... при получении неопределенного результата в ИБ с белковым профилем, включающем белки сердцевин (gag), р24, проводятся исследование для диагностики ВИЧ 2 и определение ДНК/РНК ВИЧ молекулярно-биологическими методами». На фоне все возрастающей чувствительности скрининговых методов чувствительность ИБ сохраняется консервативно низкой, что приводит к увеличению доли «отрицательных и неопределенных ИБ», кратности проведения ИБ и, соответственно, удорожанию лабораторной диагностики, увеличению длительности диагностического периода, дополнительной психологической нагрузке на пациента, отсутствию возможности освидетельствования ВВК и назначения АРВТ.

Специалисты США полностью отказались от ИБ как экспертного метода, заменив его молекулярными методами. В случае сомнительных результатов ПЦР рекомендуется повторить исследование с повторным взятием образцов крови. Обновленный диагностический алгоритм CDC тестирования на ВИЧ-инфекцию предусматривает использование ИФА-теста 4-го поколения на ВИЧ на первом шаге, точно так же, как и в РФ. В случае положительного теста на втором шаге проводится дифференцирующий ВИЧ-1/ВИЧ-2, т. е. уточняется тип вируса. Этот этап является референтным и позволяет определять ложноположительные результаты ИФА первого шага. В случае положительного результата устанавливается диагноз

ВИЧ-инфекции. В случае отрицательного или сомнительного результата второго шага проводится третий шаг — качественный анализ РНК ВИЧ методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), и при положительном результате устанавливается диагноз острой ВИЧ-инфекции [9].

Безаппаратные экспресс-тесты (ЭТ) — это тесты, которые можно выполнить без специального оборудования менее чем за 60 мин. В качестве исследуемого материала может использоваться кровь, сыворотка, плазма крови и слюна (околодесенная жидкость). ЭТ различны по методу протекания реакции и спектру определяемых маркеров. В настоящее время их чувствительность и специфичность не уступают аналогичным показателям стандартных ИФА [5].

В соответствии с действующими нормативными документами область применения простых и быстрых тестов в РФ ограничена. Каждое исследование материала с применением простых/быстрых тестов должно сопровождаться параллельным тестированием той же порции крови в стандартных методиках (ИФА, ИХЛА, ИБ). Но с учетом сопоставимо высокой чувствительности и специфичности некоторые ЭТ могли быть включены в алгоритмы лабораторной диагностики. Важным обстоятельством является то, что в качестве биологической пробы может использоваться материал, полученный неинвазивным методом. Иммунохроматографические экспресс-тесты тестирования слюны и околодесенной жидкости имеются и активно используются в скрининговых эпидемиологических исследованиях.

Включение положительных результатов ЭТ в скрининг и референтный этап диагностики в сочетании с экспертными методами на основе ПЦР может существенно сократить диагностический период для большинства больных при минимальной вероятности ложноположительного результата. Технически ЭТ просты в исполнении и не требуют дорогостоящего лабораторного оборудования. Темпы повышения качества и диагностических возможностей ЭТ опережают темпы изменения нормативных документов по их клиническому использованию. Основными «эпидемиологическими» преимуществами ЭТ являются: возможность использования неинвазивных и малоинвазивных методов забора материала; сокращение этапов диагностики и круга лиц, вовлеченных в этот процесс; возможность массового безаппаратного обследования в полевых условиях и самотестирование для ключевых и уязвимых групп населения.

Специалистами научно-исследовательских и медицинских организаций РФ выполнялись исследования по оценке прогностической ценности результатов подтверждающего тестирования ВИЧ-инфекции методами ИБ, анализа р24-антигена и ПЦР и формированию рекомендаций по повышению эффективности алгоритма выявления ВИЧ-инфекции в условиях высокого уровня ее распространенности [10–12]. Выявлена зависимость между уровнем р24-антигенемии и формированием

сероконверсии у ВИЧ-инфицированных. Использование критерия прогностичности р24Аг может способствовать сокращению количества исследований и сроков постановки диагноза.

Предлагается возможная схема лабораторного тестирования на ВИЧ-инфекцию с использованием в качестве экспертного метода ПЦР. В случае получения отрицательного результата в ПЦР и ИБ в рамках ДДН пациенту рекомендуется пройти повторное тестирование через 3–6 мес. В случае сомнительных результатов ИБ и ПЦР рекомендуется определение р24Аг.

Весьма перспективным может быть использование тест-систем, позволяющих определять давность инфицирования. Разработаны лабораторные диагностикумы (модификации ИФА или экспресс-тестов), основанные на оценке титра и авидности антител к ВИЧ, с помощью которых можно отличить недавнюю ВИЧ-инфекцию от длительно текущей [13]. Тест предназначен для исследования ВИЧ-1 позитивных образцов с подтвержденным положительным результатом в ИБ. Возможно исследование образцов с неопределенным или негативным результатом исследования в ИБ, в которых подтверждено наличие ВИЧ-1 РНК и/или антигена р24. Специалистами Главного центра Государственного санитарно-эпидемиологического надзора (специального назначения) МО РФ протестированы материалы 16 военнослужащих с впервые установленным диагнозом: ВИЧ-инфекция с целью подтверждения сроков инфицирования. Во всех случаях раннее инфицирование было подтверждено данными эпидемиологических расследований и лабораторного обследования предполагаемых источников инфекции. При сокращении длительности определенного разработчиками порогового критерия (9 мес от момента инфицирования) перспективы использования подобных типов исследований могут значительно расшириться.

Обсуждая вопросы лабораторной диагностики гемоконтактных вирусных гепатитов (ВГ), необходимо отметить, что СанПиН 3.3686–21 смягчают требования по сравнению с действующими нормативными документами к обязательному выполнению молекулярно-генетических исследований на этапе постановки лабораторного диагноза: вирусный гепатит. Но для контроля эффективности противовирусной терапии при лечении данных инфекций комплексная доступность молекулярно-генетических методов остро необходима для обеспечения исполнения действующих протоколов лечения и стандартов оказания медицинской помощи.

В ВМО МО РФ успешно проводится этиотропная противовирусная терапия хронических ВГ В и С, рассматривается возможность проведения АРВТ для ВИЧ-инфицированных военнослужащих, но пока нет референтных центров по углубленной лабораторной диагностике ВГ и ВИЧ-инфекции с определением генотипической резистентности к противовирусным препаратам (прямого противовирусного действия), научно-методическому

обоснованию направлений совершенствования лабораторной диагностики этих заболеваний. Эти вопросы решаются специалистами МЗ РФ, часто без учета возможностей и потребностей силовых ведомств.

Сфера применения простых/быстрых тестов для диагностики ВГ также осталась прежней и требует обязательной постановки лабораторного теста в рутинном ИФА. Одним из нерешенных вопросов лабораторной диагностики остается выявление оккультного гепатита В (ОкГВ) [14]. В качестве перспективного метода диагностики ОкГВ можно рассматривать метод количественной оценки ковалентно-замкнутой кольцевой дезоксирибонуклеиновой кислоты у больных с хроническим вирусным гепатитом В в пункционных биоптатах печени [15, 16]. Серологическими маркерами ОкГВ при хронических заболеваниях печени могут быть суммарные антитела к ядерному антигену вируса гепатита В (anti-HBc) или дефектные частицы вируса гепатита В, выявляемые только усовершенствованными, модифицированными диагностическими тест-системами.

Медицинские организации МО РФ, имеющие в своем составе лаборатории инфекционной иммунологии, находятся на значительном удалении от мест размещения личного состава. Следовательно, отсутствует или ограничена возможность хранения и транспортировки биоматериала в виде крови (сыворотки) или плазмы, так как одним из необходимых условий для проведения достоверных лабораторных исследований является соблюдение температурного и временного режимов. Перспективным направлением совершенствования алгоритма лабораторной диагностики СЗГВИ может быть более широкое и легитимное использование альтернативных образцов биологических жидкостей. Мы считаем, что особое внимание, следует уделить методу «сухой капли», который используется в МО РФ при лабораторной диагностике ВИЧ-инфекции с применением методов ИФА и ИБ. Сохранность антител к ВИЧ при использовании данного технологического приема транспортировки и консервации биологических проб отмечалась в течение нескольких лет [17, 18].

Этот метод позволяет фиксировать на специальной фильтровальной бумаге не только кровь, но и плазму, сыворотку и другие биологические жидкости (мочу, клетки буккального эпителия, растительную ткань, культуры клеток, колонии микроорганизмов). Почти любой клинический образец может храниться на фильтровальной бумаге для последующего анализа, хотя кровь из пальца является наиболее удобной и широко используемой. Область применения данного метода весьма широка: скрининг СЗГВИ, мониторинг эффективности противовирусной терапии при ВИЧ-инфекции и гемоконтактных вирусных гепатитах, диагностика инфекционных заболеваний, доклинические и клинические исследования, лекарственный метаболизм, фармакокинетические/токсикокинетические исследования, идентификация личности, определение отцовства, идентификация животных,

архивирование клонов, плазмидный скрининг, геномика, трансгенная идентификация, амплификация полного генома, биобанкинг, фармакогеномика, STR анализ, молекулярная биология, мультиплексная ПЦР, секвенирование после ПЦР амплификации, количественная ПЦР. Этот метод обладает рядом неоспоримых преимуществ перед обычными биологическими материалами.

Наше внимание привлекает использование этого метода пробоподготовки биологического материала для диагностики инфекционных заболеваний, особенно учитывая тот факт, что проведение подтверждающего этапа диагностики и оценка эффективности АРВТ могут осуществляться только в лабораториях экспертной диагностики, которые расположены в крупных центрах. С учетом территориальных особенностей нашего государства и тенденций на оптимизацию системы здравоохранения, оказания специализированной медицинской помощи данный метод можно рассматривать как будущее лабораторной диагностики.

В настоящий момент разработаны как импортные, так и отечественные тест-системы, позволяющие выявлять провирусную ДНК вируса иммунодефицита человека (ВИЧ-1) в клиническом материале, в т. ч. элюате «сухой капли», методом ПЦР (NucliSENS EasyQ HIV-1 v 2.0, bioMérieux, CAP/CTM HIV-1 qualitative test version 2.0, Roche, АмплиСенс ДНК-ВИЧ-FL, ИнтерЛабСервис). Но включение их в алгоритм диагностики ВИЧ-инфекции в медицинских организациях МО РФ с использованием данного альтернативного носителя биологического материала в настоящее время имеет следующие ограничения: 1) необходимость использования специальной фильтровальной бумаги; 2) внедрение во всех медицинских организациях единой стандартной операционной процедуры пробоподготовки биоматериала; 3) отсутствие в инструкциях к тест-системам российского производства для ИФА и ИБ на ВИЧ, применяемым в алгоритме экспертной диагностики, указания на валидированное использование элюата «сухих капель» плазмы и сыворотки крови.

Нами были апробированы и внедрены в практику ряд рационализаторских предложений по применению метода «сухой капли»: 1. Способ сохранности антител к ВИЧ методом «сухой капли» для обеспечения длительного хранения сывороток ВИЧ-инфицированных лиц. 2. Способ транспортировки и хранения проб сыворотки крови для обследования на антитела к вирусу гепатита С. 3. Способ транспортировки и хранения проб сыворотки крови для обследования на HBsAg вируса гепатита В. 4. Способ транспортировки и хранения проб сыворотки крови для обследования на иммуноглобулины IgM вируса гепатита А. 5. Полимерный переносной планшет для заготовки биологического материала методом «сухой капли». 6. Способ обеззараживания биологического материала, заготовленного методом «сухой капли», ультрафиолетовым облучением для обеспечения безопасного хранения и транспортировки сывороток ВИЧ-инфицированных военнослужащих.

Одним из перспективных направлений является использование nested — ПЦР с использованием двух пар праймеров и проведением двух последовательных реакций, вторая пара праймеров амплифицирует участок ДНК внутри продукта первой реакции. Так же как возможные перспективные молекулярно-генетические методики, используемые в лабораториях ВМО МО РФ, можно рассматривать: LAMP-ПЦР, цифровую ПЦР, использование комбинированных ПЦР-тестов (масс-спектрометрический анализ ПЦР-ампликонов), внедрение молекулярно-генетических методов (секвенирование) с целью изучения генотипической резистентности к противовирусным препаратам [19, 20].

ВЫВОДЫ

Направлениями совершенствования лабораторной диагностики СЗГВИ в МО РФ могут являться:

- оптимизация логистики преаналитического этапа диагностики с расширением спектра валидированных методов консервации и доставки проб в лаборатории (в т. ч. «сухой капли»);
- сокращение длительности аналитического этапа диагностики путем более широкого клинического использования ЭТ и ПЦР (включая изотермический вариант);
- повышение чувствительности и специфичности методов серологической и молекулярной диагностики;
- совершенствование методологии валидации и интерпретации результатов лабораторной диагностики при обеспечении военно-врачебной экспертизы военнослужащих.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, алгоритмы диагностики СЗГВИ нуждаются в пересмотре в пользу подтверждающих методов, позволяющих с высокой скоростью

и прогностической ценностью результата устанавливать наличие инфекции в первом образце крови или ином биологическом субстрате, взятом у пациента, с целью повышения своевременности лечебных и противоэпидемических мероприятий. Предлагается использование простых быстрых тестов с высокой чувствительностью и специфичностью в алгоритме диагностики, что позволит сократить ее длительность. Необходима валидация метода «сухой капли» для ИФА, ПЦР тест-систем отечественного производства с целью первичной диагностики и ДДН. Целесообразно внедрение тест-систем, позволяющих определить сроки инфицирования, особенно в случаях с сомнительными результатами ИБ. Необходимо совершенствование нормативной базы по обследованию и регистрации ВИЧ-инфицированных. Очевидна необходимость определения юридического статуса лиц с незавершенной диагностикой ВИЧ-инфекции с целью своевременности противоэпидемических и лечебно-профилактических мероприятий и объективности статистического учета данной категории лиц, также требуется подготовка специалистов лабораторной службы по новым методам исследования и интерпретации их результатов.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Финансирование данной работы не проводилось.

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

Этическая экспертиза. Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Улюкин И.М., Буланьков Ю.И., Болехан В.Н., и др. Проблемы лабораторного определения гемоконтактных инфекций // Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2013. № 3 (43). С. 1–8.
2. Аминев Р.М., Кузин А.А., Зобов А.Е. Военная эпидемиология: современное состояние и перспективы развития // Известия Российской Военно-медицинской академии. 2019. Т. 38, № 4. С. 89–92. DOI: 10.17816/rmmar26027
3. Буланьков Ю.И., Булыгин М.А., Жданов К.В., и др. Клинико-эпидемиологическая характеристика ВИЧ-инфекции у военнослужащих Минобороны России как обоснование направлений оптимизации медицинской помощи военнослужащим // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2020. № 2 (4). С. 32–42. DOI: 10.22328/2077-9828-2020-12-4-32-42
4. Ульянова Я.С., Краснова Е.И., Проворова В.В., и др. Клинико-лабораторные проявления и сложности диагностики острой ВИЧ-инфекции у взрослых // Лечащий врач. 2019. № 9. С. 70–73.
5. Киреев Д.Е., Шипулин Г.А., Семенов А.В., и др. Сравнительная оценка тест-систем ИФА/ИХЛА 4-го поколения, применяемых в российской федерации для диагностики ВИЧ-инфекции // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2019. № 11 (2). С. 103–113.
6. Загрядская Ю.Е., Обрядина А.П. Современные подходы к диагностике ранней и длительно текущей ВИЧ-инфекции // Лабораторная диагностика инфекционных заболеваний 2016. № 1 (16). С. 8–12.
7. Лаповок И.А., Лопатухин А.Э., Кириченко А.А., и др. Сравнительный анализ диагностических наборов для количественного определения РНК ВИЧ-1, производимых в России // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2020. № 12 (1). С. 123–133. DOI: 10.22328/2077-9828-2020-12-1-123-133
8. Загрядская Ю.Е., Обрядина А.П. Клинические аспекты лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции // Лабораторная диагностика инфекционных заболеваний. 2016. № 1 (16). С. 12–15.

9. Branson B., Owen M., Bennett B., et al. Laboratory testing for the diagnosis of HIV infection: updated recommendations. 2014.
10. Тыргина Т.В., Максимова А.Г., Буланьков Ю.И., Волокобинская Т.В. Оценка эффективности метода определения активности обратной транскриптазы ВИЧ с использованием тест-системы Exavir Load V.3 // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2011. Т. 3, № 4. С. 67–71.
11. Нешумаев Д.А., Мейрманова Е.М., Кунцевич О.Н., и др. Определение ранней ВИЧ-инфекции в популяции по частоте встречаемости р24 антигена и в исследовании на давность заражения. // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2020. № 12 (1). С. 68–74. DOI: 10.22328/2077-9828-2020-12-1-68-74
12. Kireev D.E., Chulanov V.P., Shipulin G.A., et al. Serological diagnosis and prevalence of HIV-1 infection in Russian metropolitan areas // BMC Infect. Dis. 2021. Vol. 21, No. 1. P. 24; DOI: 10.1186/s12879-020-05695-z
13. Загрядская Ю.Е., Нешумаев Д.А., Кокотюха Ю.А., и др. Оценка новой тест-системы ДС-ИФА-ВИЧ-АТ-СРОК для определения вероятных сроков заражения вирусом иммунодефицита человека 1-го типа (ВИЧ-1) // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2015. Т. 20, № 3. С. 23–27. DOI: 10.17816/eid40863
14. Семенов А.В., Останкова Ю.В. Окультный (скрытый) гепатит В: проблемы лабораторной диагностики // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2019. Т. 8, № 3. С. 60–69. DOI: 10.24411/2305-34962019-13010
15. Габдрахманов И.А., Козлов К.В., Сукачев В.С., и др. Взаимосвязь ковалентно-замкнутой кольцевидной дезоксирибонуклеиновой кислоты и клинико-вирусологических показателей у больных хроническим вирусным гепатитом В // Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2016. № 1 (53). С. 234–240.
16. Останкова Ю.В., Семенов А.В., Тотолян Арег А. Метод количественной оценки кольцевой ковалентно-замкнутой ДНК ВГВ в пункционных биоптатах печени // Клиническая лабораторная диагностика. 2019. Т. 64, № 9. С. 565–570. DOI: 10.18821/0869-2084-2019-64-9-565-570
17. Буланьков Ю.И., Орлова Е.С., Лебедева Н.Г., и др. Сохранность антител к ВИЧ в сыворотке крови при использовании метода «сухой капли». В сб.: Актуальные проблемы трансфузиологии. Материалы научно-практической конференции, СПб., 7 октября 2011 г. СПб., 2011. С. 14.
18. Гавриш И.В. Метод капиллярной сухой крови и его место в лаборатории ИФА СПИД Центра // Медицина. 2012. № 2. С. 84–86.
19. Зубик А.Н., Рудницкая Г.Е., Евстапов А.А. Изотермическая петлевая амплификация LAMP в формате микроустройств (Обзор) // Научное приборостроение. 2021. Т. 31, № 1. С. 3–43.
20. Киселева Я.Ю., Птицин К.Г., Радько С.П., и др. Цифровая капиллярная ПЦР — перспективный технологический подход к количественному профилированию микроРНК // Биомедицинская химия. 2016. Т. 62, № 4. С. 403–410.

REFERENCES

1. Ulyukin IM, Bulan'kov Yul, Bolekhan VN, et al. Challenges of Laboratory Distinction Blood Transmitted Infections. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2013;3(43):1–8. (In Russ.)
2. Aminev RM, Kuzin AA, Zbov AE. Military Epidemiology: Current State and Development Prospects. *Russian Military Medical Academy Reports*. 2019;38(4): 89–92. (In Russ.) DOI: 10.17816/rmmar26027
3. Bulan'kov Yul, Bulygin MA, Zhdanov KV, et al. Clinical and epidemiological characteristics of HIV-positive servicemen in Russian Ministry of Defence as justification for directions of optimizing the medical care to servicemen. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2020;(2(4)):32–42. (In Russ.) DOI: 10.22328/2077-9828-2020-12-4-32-42
4. Ulyanova YaS, Krasnova EI, Provorova VV, et al. Clinical manifestations and challenges of diagnostics of acute HIV infection in adults. *Lechashchij vrach*. 2019;(9):70–73. (In Russ.)
5. Kireev DE, Shipulin GA, Semenov AV, et al. Comparative Evaluation of the 4th Generation ELISA/CLIA assays used for the Diagnosis of HIV Infection in the Russian Federation. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2019;(11(2)):103–113. (In Russ.) DOI: 10.22328/2077-9828-2019-11-2-103-113
6. Zagryadskaya YuE, Obryadina AP. Modern approaches to the diagnosis of early and long-term HIV infection. *Laboratornaya diagnostika infektsionnykh zaboolevaniy*. 2016;(1(16)):8–12. (In Russ.)
7. Lapovok IA, Lopatukhin AE, Kirichenko AA, et al. Comparative analysis of diagnostic kits for the quantitative determination of HIV-1 RNA produced in Russia. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2020;(12(1)):123–133. (In Russ.) DOI: 10.22328/2077-9828-2020-12-1-123-133
8. Zagryadskaya YuE, Obryadina AP. Clinical aspects of laboratory diagnosis of HIV infection. *Laboratornaya diagnostika infektsionnykh zaboolevaniy*. 2016;(1(16)):12–15. (In Russ.)
9. Branson B, Owen M, Bennett B, et al. *Laboratory testing for the diagnosis of HIV infection: updated recommendations*. 2014.
10. Tyrgina TV, Maksimova AG, Bulan'kov Yul, Volokobinskaya TV. Evaluation of method of determining the activity of HIV reverse transcriptase using test-sistemy Exavir Load V.3. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2011;3(4):67–71. (In Russ.)
11. Neshumaev DA, Meyrmanova EM, Kuncovich ON, et al. Estimates of recent HIV infection in populacion by frequency of occurrence p24 antigen and in the kit distinguish recent from longstanding infection. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2020;(12(1)):68–74. (In Russ.) DOI: 10.22328/2077-9828-2020-12-1-68-74
12. Kireev DE, Chulanov VP, Shipulin GA, et al. // Serological diagnosis and prevalence of HIV-1 infection in Russian metropolitan areas. *BMC Infect Dis*. 2021;21(1):24; DOI: 10.1186/s12879-020-05695-z
13. Zagryadskaya YuE, Neshumaev DA, Kokotyukha YuA, et al. Assessment of a new "DS-EIA-HIV-AB-TERM" assay to determine the probable time of infection with human immunodeficiency virus-1 (HIV-1). *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni*. 2015;20(3):23–27. (In Russ.) DOI: 10.17816/eid40863
14. Semenov AV, Ostankova YuV. Occult (latent) hepatitis B virus: problems of laboratory diagnostics. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie*. *Infectious Diseases: News, Opinions, Training*. 2019;8(3):60–69. (In Russ.) DOI: 10.24411/2305-34962019-13010
15. Gabdrakhmanov IA, Kozlov KV, Sukachev VS, et al. Connection between covalently closed circular deoxyribonucleic acid and both clinical and virological indicators in patients with chronic viral hepatitis B. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2016;(1(53)):234–240. (In Russ.)

16. Ostankova YuV, Semenov AV, Totolian Areg A. The quantitative determination method of covalently closed circular DNA HBV in puncture biopsy specimens of the liver. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2019;64(9):565–570 (In Russ.) DOI: 10.18821/0869-2084-2019-64-9-565-570
17. Bulan'kov Yul, Orlova ES, Lebedeva NG, et al. Preservation of antibodies to HIV in blood serum using the "dry drop" method. In: *Aktual'nyye problemy transfuziologii* (Actual problems of Transfusiology). Materials of the scientific and practical conference, St. Petersburg, October 7, 2011. St. Petersburg; 2011. P. 14. (In Russ.)
18. Gavrish IV. The method of capillary dry blood and its place in the laboratory of the ELISA AIDS Center. *Medicine*. 2012;(2):84–86. (In Russ.)
19. Zubik AN, Rudnitskaya GE, Evstrapov AA. LOOP-mediated isothermal amplification (LAMP) technique in microdevice format (review). *Nauchnoe priborostroeniye*. 2021;31(1):3–43. (In Russ.)
20. Kiseleva YaYu, Ptitsyn KG, Radko SP, et al. Digital droplet PCR — a prospective technological approach to quantitative profiling of microRNA. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2016;62(4):403–410. (In Russ.) DOI: 10.18097/pbmc20166204403

ОБ АВТОРАХ

***Елена Станиславовна Орлова**, канд. мед. наук, старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории (регистр инфекционной патологии и ВИЧ-инфицированных военнослужащих) научно-исследовательского отдела (Всеармейский медицинский регистр МО РФ) научно-исследовательского центра; адрес: Россия, 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1586-6635>; Scopus Author ID: 35178068800; eLibrary SPIN: 9424-9235; Author ID: 879889; Researcher ID: AAZ-1271-2021; e-mail: oes17@yandex.ru

Юрий Иванович Буланков, докт. мед. наук, доцент, Врио начальника центра клинической лабораторной диагностики; Scopus Author ID: 6506525191; Author ID: 698830; Researcher ID: AAM-6084-2021; e-mail: dr.bulankov@mail.ru

Алексей Александрович Сечин, майор мед. службы, начальник научно-исследовательской лаборатории научно-исследовательского отдела (Всеармейский медицинский регистр МО РФ) научно-исследовательского центра; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6832-6988>; eLibrary SPIN: 5002-8222; Researcher ID: GRS-2470-2022; e-mail: sechinalex@rambler.ru

AUTHORS' INFO

***Elena S. Orlova**, M.D., Ph.D. (Medicine), Research Associate of the Research Laboratory (register of infectious diseases and HIV-infected servicemen) of the Research Department (all-Army Medical Register of the Ministry of Defense of the Russian Federation) of the Research Center; address: 6, Akademika Lebedeva str., Saint Petersburg, 194044, Russia; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1586-6635>; Scopus Author ID: 35178068800; eLibrary SPIN: 9424-9235; Author ID: 879889; Researcher ID: AAZ-1271-2021; e-mail: oes17@yandex.ru

Yuriy I. Bulan'kov, M.D., D.Sc. (Medicine), Associate Professor, the Acting Head of the Center for Clinical Laboratory Diagnostics; Scopus Author ID: 6506525191; Author ID: 698830; Researcher ID: AAM-6084-2021; e-mail: dr.bulankov@mail.ru

Aleksey A. Sechin, M.D., major medical service, the Head of research laboratory of the Research Department (all-Army Medical Register of the Ministry of Defense of the Russian Federation) of the Research Center; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6832-6988>; eLibrary SPIN: 5002-8222; Researcher ID: GRS-2470-2022; e-mail: sechinalex@rambler.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

УДК 618-019

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar109074>

Научная статья

Митохондриальные сети клеток кумулюса и качество ооцитов

Е.В. Панферов¹, Н.И. Тапильская², К.С. Масиева³, К.В. Обьедкова², А.М. Гзгзян²¹ Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия;² Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия;³ Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия

Актуальность. Митохондрии играют жизненно важную роль в поддержании нормального функционирования ооцитов, внутриутробного развития эмбриона и являются важным индикатором качества и функциональной полноценности ооцитов. Митохондриальная дисфункция ооцитов коррелирует с нарушением оплодотворения и развитием эмбриона, что клинически проявляется бесплодием, нарушением имплантации и редукцией эмбриона. Значительную роль в цитоплазматическом созревании ооцитов и формировании достаточного митохондриального пула играют клетки кумулюса.

Цель: провести сравнительный анализ между состоянием митохондриальных сетей клеток кумулюса и качеством ооцитов.

Материалы и методы. В исследование включено 22 пациентки в возрасте от 28 до 37 лет включительно (средний возраст $32,3 \pm 1,2$ года) с трубно-перитонеальным фактором бесплодия. В процессе протоколов вспомогательных репродуктивных технологий получено 74 ооцита, из которых 39 было хорошего качества, а 35 имели негативные морфологические признаки. Одновременно с ооцитами из фолликулярной жидкости были выделены клетки кумулюса, которые окрашивались прижизненным митохондриальным флуоресцентным красителем. Методом конфокальной микроскопии выполнялся анализ трехмерной организации митохондрий в 20–30 клетках одного пула фолликулярной жидкости. Для оценки митохондриальной сети использовались следующие параметры: время затухания флуоресценции и ее интенсивность.

Результаты. Время затухания флуоресценции в клетках кумулюса, взятых из фолликулярной жидкости, окружающей ооцит хорошего качества, было достоверно выше ($p = 0,032$) аналогичного показателя в случае идентификации ооцитов с негативными признаками.

Заключение. Структура митохондриальных сетей в клетках кумулюса коррелирует ($r = 0,76$) с качеством ооцитов.

Ключевые слова: вспомогательные репродуктивные технологии; качество ооцитов; клетки кумулюса; митохондриальные сети; невынашивание беременности; репродуктивная сфера; яйцеклетки.

Как цитировать:

Панферов Е.В., Тапильская Н.И., Масиева К.С., Обьедкова К.В., Гзгзян А.М. Митохондриальные сети клеток кумулюса и качество ооцитов // Известия Российской Военно-медицинской академии. 2022. Т. 41. № 3. С. 303–308. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar109074>

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar109074>

Research Article

Mitochondrial networks of cumulus cells and oocyte quality

Egor V. Panferov¹, Natalya I. Tapilskaya², Kristina S. Masieva²,
Ksenia V. Ob'edkova², Alexander M. Gzgzyan²

¹ Institute of Cytology Russian Academy of Science, Saint Petersburg, Russia;

² Ott Research institute of obstetrics, gynecology and reproductology, Saint Petersburg, Russia;

³ Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

BACKGROUND: Mitochondria play vital roles in oocyte functions and they are critical indicators of oocyte quality which is important for fertilization and development into viable offspring. Quality-compromised oocytes in which mitochondrial dysfunction plays a significant role are correlated with infertility, developmental disorders and embryo loss. A significant role in the oocytes of cytoplasmic accumulation and a sufficient amount of the mitochondrial pool of oocytes is played by the cumulus cells surrounding it.

AIM: to conduct a comparative analysis between the state of mitochondrial networks of cumulus cells and the quality of oocytes.

MATERIALS AND METHODS: The study included 22 women aged 28 to 37 years inclusive (mean age 32.3 ± 1.2 years) with tubal infertility. During the assisted reproductive technology procedures, 74 oocytes were obtained. 39 good quality oocytes and their cumulus cells were compared with 35 bad quality oocytes and their cumulus cells respectively. After puncture of ovarian follicles cumulus cells were isolated and stained with fluorescent dye for cell tracing and mitochondrial imaging *in vivo*. The method of confocal microscopy was used to analyze the three-dimensional organization of mitochondria in 20–30 cells of one pool of follicular fluid. The following parameters were used to evaluate the mitochondrial network: fluorescence decay time and fluorescence intensity.

RESULTS: The decay time of fluorescence in cumulus cells associated with a good quality oocyte was significantly higher ($p = 0.032$) than in the case of identification of oocytes with negative signs.

CONCLUSION: The structure of mitochondrial networks in cumulus cells correlates ($r = 0.76$) with the quality of oocytes.

Keywords: assisted reproductive technologies; cumulus cells; eggs; miscarriage; mitochondrial networks; oocyte quality; reproductive sphere.

To cite this article:

Panferov EV, Tapilskaya NI, Masieva KS, Ob'edkova KV, Gzgzyan AM. Mitochondrial networks of cumulus cells and oocyte quality. *Russian Military Medical Academy Reports*. 2022;41(3):303–308. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar109074>

Received: 29.06.2022

Accepted: 14.07.2022

Published: 30.09.2022

АКТУАЛЬНОСТЬ

Нарушения фертильности является растущей проблемой в развитых странах, при этом ассоциированная с бесплодием митохондриальная дисфункция была продемонстрирована у женщин как при определенных соматических заболеваниях, так и идиопатическом бесплодии. Митохондрии ооцитов в отличие от соматических клеток обеспечивают выработку АТФ гликолитическим и пентозофосфатным путями, а не путем окислительного фосфорилирования, что обеспечивает активную энергетическую аранжировку на ранних этапах эмбриогенеза. Значительную роль в достижении ооцитами цитоплазматического созревания и формировании достаточного митохондриального пула ооцитов играют окружающие его клетки кумулюса [1].

Функциональные митохондриальные нарушения являются взаимосвязанным фактором многочисленных заболеваний, в том числе и в репродуктивной сфере [2]. Данный тезис привел к предположению, что как аномальные метаболические маркеры митохондрий, так и количественные и качественные нарушения функционирования митохондриальных сетей ассоциированы с неблагоприятным репродуктивным прогнозом [3]. Повышенные маркеры оксидативного стресса у женщин репродуктивного возраста ассоциированы как с митохондриальными дисфункциями и наличием репродуктивно-значимой патологией (например, синдром поликистозных яичников), так и с высоким риском бесплодия и невынашивания беременности [4]. С другой стороны, маркеры оксидативного стресса являются результатом субклинических нарушений, в то время как до появления лабораторных маркеров уже на протяжении определенного времени имеются ультраструктурные изменения, отражающие функциональный потенциал клеток [5]. Одним из таких изменений является состояние митохондриальных сетей в функциональных и вспомогательных клетках [6].

Цель исследования — провести сравнительный анализ между состоянием митохондриальных сетей клеток кумулюса и качеством ооцитов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование было проведено на материале, полученном при выполнении пункции фолликулов в протоколах вспомогательных репродуктивных технологий (BPT) отделения репродуктологии НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта. При исследовании фолликулярной жидкости, полученной от 22 пациенток в возрасте от 28 до 37 лет включительно (средний возраст $32,3 \pm 1,2$ года) с трубно-перитонеальным фактором бесплодия, после отбора ооцитов были выделены клетки кумулюса, после чего суспензия высевалась на покровные стекла в шестилуночных культуральных планшетах.

После суточной инкубации при температуре 37°C клетки окрашивались прижизненным митохондриальным красителем (митотрекером) в течение 45 мин в бессывороточной среде. Фиксация на предметные стекла выполнялась в 10 % растворе нейтрального забуференного формалина в течение 10 мин. Визуализация осуществлялась при помощи конфокального микроскопа Leica TCS SP5 II с аналитической системой SMD FLCS. Для анализа трехмерной организации митохондрий с каждого препарата выбиралось от 20 до 30 клеток, для каждой из которых снимался z-стек, полностью захватывающий все митохондрии в клетке. Размер вокселя подбирался в соответствии с критерием Найквиста для возможности проведения пространственной деконволюции, которая осуществлялась при помощи специальной компьютерной программы, рассчитывающей функцию рассеивания точки. Полученные в результате деконволюции данные сегментировались в программе Bitplane Imaris с использованием модуля Filament Tracer. В статистический анализ включались средние значения параметра Filament Length для каждой клетки, включаемые в анализ как параметр длины ветви митохондриальной сети, а также количество таких ветвей сети. Ветви длиной менее 0,7 мкм принимались за артефакт сегментации и не учитывались при обработке данных. Число ветвей митохондриальной сети косвенно оценивалось по среднему времени затухания флуоресценции (τ , мс).

В дальнейшем результаты исследования митохондриальных сетей клеток кумулюса сравнивались с качеством полученных в протоколах BPT ооцитов. Качество ооцитов оценивалось на основании внешнего вида цитоплазмы, вителлинового слоя, полярного тельца. Исследование выполнено в полном соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы научных и медицинских исследований с участием человека», действующими порядками и стандартами оказания медицинской помощи, а также другими регуляторными требованиями к проведению клинических исследований и наблюдательных программ в Российской Федерации.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По результатам оценки эмбриологических протоколов было получено 74 ооцита, при этом 39 ооцитов были хорошего качества и отличались гомогенной цитоплазмой однородного цвета и отсутствием гранулярности, 35 ооцитов имели негативные признаки и характеризовались наличием вакуолей, темной окраской, включениями, деформацией и/или гранулярностью. Среднее время затухания в клетках кумулюса при ооцитах хорошего качества составило 3,11 (2,64; 3,53) мс, было достоверно выше при анализе данных клеток при ооцитах с негативными признаками и составило 0,97 (0,60; 1,95) мс ($U = 276,5$, $p = 0,032$). Корреляционный анализ ранжированных

значений (по Спирмену) продемонстрировал, что время затухания флуоресценции имело сильную прямую корреляцию ($r = 0,76$) с числом ветвей митохондриальной сети. Таким образом, степень разветвления (структура) митохондриальной сети клеток кумулюса коррелирует с качеством ооцита.

При исследовании внутриклеточной структуры клеток кумулюса было установлено, что увеличение длины ветвей митохондриальной сети обратно коррелировало с количеством митохондрий. Основываясь на этом факте, можно предположить, что в данном случае это, скорее всего, является следствием фракционирования сети, а не нарастания массы митохондрий путем их деления, поскольку биогенез митохондрий не сопряжен с распадом митохондриальных сетей [7]. Достоверных различий в интенсивности флуоресценции не получено, однако при увеличении длины ветвей увеличивается интенсивность флуоресценции, что было установлено на основании уменьшения среднего значения τ при снижении увеличения средней длины ветви митохондриальной сети. Вероятно, данные изменения связаны с тем, что для работы электрон-транспортной цепи создаются более благоприятные условия и/или в более крупных митохондриях генерируется меньше активных форм кислорода либо они более эффективно нейтрализуются [8]. Полученные различия в клетках кумулюса можно связать с механизмом самоконтроля качества и количества митохондрий клеткой. Имеются данные, что с увеличением генерации активных форм кислорода все большее количество внутриклеточных элементов оказываются поврежденными, что приводит к более активному отделению от сети митохондрий с поврежденными комплексами электронно-транспортной сети в результате модификации активности аппарата деления митохондрий [9]. Средняя длина ветви митохондриальной сети при этом также несколько уменьшается.

Развитие научно-технического прогресса за счет внедрения молекулярно-генетических методов диагностики качества эмбриона в виде предимплантационной генетической диагностики решило вопрос эмбриональной селекции, т. е. отбора генетически полноценных эмбрионов и выбраковывания анеуплоидных эмбрионов. Однако в настоящее время достаточно остро стоит проблема отсутствия имплантации генетически полноценных эмбрионов даже при нормальном состоянии эндометрия, что при достаточном количестве репродуктивного материала еще больше усложняет процесс селекции эмбриона для переноса. Настоящая работа является пилотным проектом по оценке митохондриального потенциала ооцитов,

основанным на оценке структуры митохондриальной сети основных клеток, окружающих ооцит, — клеток кумулюса, которые извлекаются вместе с яйцеклеткой при пункции фолликулов в протоколах ВРТ. Отсутствие возможности, за исключением морфологических данных, выполнить оценку ооцита стимулирует научный поиск маркеров качества репродуктивного материала. В первые часы эмбриогенеза митохондрии ооцита являются источником энергии для развивающегося эмбриона, который получает минимальное количество питательных веществ до момента инвазии трофобласта в эндометрий [10].

Любой вариант неинвазивной для эмбриона диагностики его возможного качества может рассматриваться как вариант предиктивной аналитики в вопросах эмбриональной селекции, базирующийся на оценке их перспективности. В дополнении к информации об отсутствии генетических аномалий у эмбриона сведения о качестве эмбриона, основанные на данных о состоянии митохондриальных сетей клеток кумулюса, могут быть крайне полезными для выбора эмбриона-кандидата для переноса в полость матки.

Если состояние митохондриальных сетей клеток кумулюса имеет достаточную степень корреляции с качеством и количеством митохондрий ооцита, это может быть вариантом неинвазивной диагностики определения качества эмбриона, полученного при оплодотворении *in vitro* ооцитов с известными данными.

Вывод. На основании флуоресценции митохондрий в клетках кумулюса установлено, что структура митохондриальных сетей в клетках, формирующих непосредственное окружение ооцита при созревании фолликула, коррелирует с качеством ооцитов и, соответственно, качеством эмбрионов.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Финансирование данной работы не проводилось.

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

Этическая экспертиза. Исследование выполнено на биологическом материале, подлежащем обязательной утилизации, в силу чего одобрение локального этического комитета не требуется.

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Park S.U., Walsh L., Berkowitz K.M. Mechanisms of ovarian aging // *Reproduction*. 2021. Vol. 162, No. 2. Art. R19–R33. DOI: 10.1530/REP-21-0022
2. Duckney P.J., Wang P., Hussey P.J. Membrane contact sites and cytoskeleton-membrane interactions in autophagy // *FEBS Lett*. 2022. Vol. 596. P. 2093–2103. DOI: 10.1002/1873-3468.14414

3. Quinlan C.L., Perevoshchikova I.V., Hey-Mogensen M., et al. Sites of reactive oxygen species generation by mitochondria oxidizing different substrates // *Redox biology*. 2013. Vol. 1, No. 1. P. 304–312. DOI: 10.1016/j.redox.2013.04.005
4. Murphy M.P. Mitochondrial thiols in antioxidant protection and redox signaling: distinct roles for glutathionylation and other thiol modifications // *Antioxidants & redox signaling*. 2012. Vol. 16, No. 6. P. 476–495. DOI: 10.1089/ars.2011.4289
5. von Mengden L., Klamt F., Smitz J. Redox biology of human cumulus cells: basic concepts, impact on oocyte quality, and potential clinical use // *Antioxidants & redox signaling*. 2020. Vol. 32, No. 8. P. 522–535. DOI: 10.1089/ars.2019.7984
6. Richani D., Dunning K.R., Thompson J.G., et al. Metabolic co-dependence of the oocyte and cumulus cells: essential role in determi-

- ning oocyte developmental competence // *Human reproduction update*. 2021. Vol. 27, No. 1. P. 27–47. DOI: 10.1093/humupd/dmaa043
7. Friedman J.R., Nunnari J. Mitochondrial form and function // *Nature*. 2014. Vol. 505, No. 7483. P. 335–343. DOI: 10.1038/nature12985
8. Schofield J.H., Schafer Z.T. Mitochondrial reactive oxygen species and mitophagy: a complex and nuanced relationship // *Antioxidants & redox signaling*. 2021. Vol. 34, No. 7. P. 517–530. DOI: 10.1089/ars.2020.8058
9. Ikonomi N., Werle S.D., Schwab J.D., Kestler H.A. Discrete Logic modeling of cell signaling pathways // *Methods Mol. Biol.* 2022. Vol. 2488. P. 159–181. DOI: 10.1007/978-1-0716-2277-3_12
10. Rodríguez-Varela C., Labarta E. Role of mitochondria transfer in infertility: A Commentary // *Cells*. 2022. Vol. 11, No. 12. Art. 1867. DOI: 10.3390/cells11121867

REFERENCES

1. Park S.U., Walsh L., Berkowitz K.M. Mechanisms of ovarian aging. *Reproduction*. 2021;162(2): R19–R33. DOI: 10.1530/REP-21-0022
2. Duckney P.J., Wang P., Hussey P.J. Membrane contact sites and cytoskeleton-membrane interactions in autophagy. *FEBS Lett.* 2022;596:2093–2103. DOI: 10.1002/1873-3468.14414
3. Quinlan C.L., Perevoshchikova I.V., Hey-Mogensen M., et al. Sites of reactive oxygen species generation by mitochondria oxidizing different substrates. *Redox biology*. 2013;1(1):304–312. DOI: 10.1016/j.redox.2013.04.005
4. Murphy M.P. Mitochondrial thiols in antioxidant protection and redox signaling: distinct roles for glutathionylation and other thiol modifications. *Antioxidants & redox signaling*. 2012;16(6):476–495. DOI: 10.1089/ars.2011.4289
5. von Mengden L., Klamt F., Smitz J. Redox biology of human cumulus cells: basic concepts, impact on oocyte quality, and potential clinical use. *Antioxidants & redox signaling*. 2020;32(8):522–535. DOI: 10.1089/ars.2019.7984
6. Richani D., Dunning K.R., Thompson J.G., et al. Metabolic co-dependence of the oocyte and cumulus cells: essential role in determining oocyte developmental competence. *Human reproduction update*. 2021;27(1):27–47. DOI: 10.1093/humupd/dmaa043
7. Friedman J.R., Nunnari J. Mitochondrial form and function. *Nature*. 2014;505(7483):335–343. DOI: 10.1038/nature12985
8. Schofield J.H., Schafer Z.T. Mitochondrial reactive oxygen species and mitophagy: a complex and nuanced relationship. *Antioxidants & redox signaling*. 2021;34(7):517–530. DOI: 10.1089/ars.2020.8058
9. Ikonomi N., Werle S.D., Schwab J.D., Kestler H.A. Discrete Logic modeling of cell signaling pathways. *Methods Mol Biol.* 2022;2488:159–181. DOI: 10.1007/978-1-0716-2277-3_12
10. Rodríguez-Varela C., Labarta E. Role of mitochondria transfer in infertility: A Commentary. *Cells*. 2022;11(12):1867. DOI: 10.3390/cells11121867

ОБ АВТОРАХ

Егор Валерьевич Панферов, магистр Института цитологии РАН;
e-mail: panferov.aux@gmail.com

***Наталья Игоревна Тапильская**, докт. мед. наук,
профессор, ведущий научный сотрудник; адрес: Россия,
199034, г. Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5309-0087>;
Scopus Author ID: 23013489000;
eLibrary SPIN: 3605-0413; Author ID: 167924;
e-mail: tapnatalia@yandex.ru

AUTHORS' INFO

Egor V. Panferov, master of the Institute of cytology of the
Russian Academy of Sciences; e-mail: panferov.aux@gmail.com

***Natalya I. Tapilskaya**, M.D., D.Sc. (Medicine),
Professor, leading research scientist;
address: 3, Mendeleevskaya lane, Saint Petersburg, 199034, Russia;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5309-0087>;
Scopus Author ID: 23013489000;
eLibrary SPIN: 3605-0413; Author ID: 167924;
e-mail: tapnatalia@yandex.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

ОБ АВТОРАХ

Кристина Сабухиевна Масиева, студентка 6 курса;
e-mail: masieva98@mail.ru

Ксения Владимировна Обьедкова, канд. мед. наук,
научный сотрудник отдела репродукции;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2056-7907>;
Scopus Author ID: 57201161145;
eLibrary SPIN: 2709-2890; Author ID: 1048781;
e-mail: obedkova_ks@mail.ru

Александр Мкртичевич Гзгзян, докт. мед. наук,
заведующий отделом репродукции;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3917-9493>;
eLibrary SPIN: 6412-4801; Author ID: 231438;
e-mail: iagmail@ott.ru

AUTHORS' INFO

Kristina S. Masieva, 6th year student;
e-mail: masieva98@mail.ru

Ksenia V. Ob'edkova, M.D., Ph.D. (Medicine),
research scientist of the Reproduction Department;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2056-7907>;
Scopus Author ID: 57201161145;
eLibrary SPIN: 2709-2890; Author ID: 1048781;
e-mail: obedkova_ks@mail.ru

Alexander M. Gzgzyan, M.D., D.Sc. (Medicine),
Head of the Reproduction Department;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3917-9493>;
eLibrary SPIN: 6412-4801; Author ID: 231438;
e-mail: iagmail@ott.ru

УДК 617-089.844

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar109090>

Обзорная статья

Аллогенные остеопластические материалы для реконструктивной хирургии боевых травм

В.В. Хоминец, К.А. Воробьев, М.О. Соколова, А.К. Иванова, А.В. Комаров

Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия

Количество операций с использованием остеопластических материалов ежегодно возрастает, что объясняется увеличением числа высокотехнологичных операций, реконструктивных вмешательств при костной патологии, онко-ортопедии, деформациях костей, а также дефектах тканей, полученных в результате боевой травмы. Кость, как объект трансплантации является предпочтительной, поскольку применение костной ткани и материалов, изготовленных на ее основе, создает необходимые условия для биологического восстановления кости как органа.

Современной тенденцией стало развитие технологий регенеративной медицины и разработка модифицированных материалов с улучшенными и заданными свойствами — остеопластические материалы перестали быть статическими конструкциями, а присущая им ранее инертность сменилась функциональной активностью.

В статье описаны базовые преимущества костной ткани и аллогенных остеопластических материалов для их перспективного применения в реконструктивно-восстановительной хирургии опорно-двигательного аппарата. Приводятся данные по опыту применения донорских костных тканей для гомопластики в клинике военной травматологии и ортопедии Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова. Рассматриваются преимущества аллогенных децеллюляризованных тканей для применения в клинической и научной практике. Показана важность сохранения архитектуры нативной ткани для успешной трансплантации кости. Децеллюляризация является методом, позволяющим удалить все иммуногенные агенты из тканей и органов, включая клетки и остаточную ДНК, сохраняя естественный состав и архитектуру внеклеточного матрикса для наиболее эффективного применения аллогенной костной ткани. Применение децеллюляризированной аллогенной костной ткани, очищенной до минерально-коллагенового матрикса или деминерализованной, является наиболее практичным вариантом среди прочих остеопластических материалов при наличии необходимости замещения крупных фрагментов кости.

Ключевые слова: аллогенные материалы; децеллюляризованная кость; костный дефект; костная патология; костный трансплантат; остеопластические материалы; реконструктивно-восстановительная хирургия.

Как цитировать:

Хоминец В.В., Воробьев К.А., Соколова М.О., Иванова А.К., Комаров А.В. Аллогенные остеопластические материалы для реконструктивной хирургии боевых травм // Известия Российской Военно-медицинской академии. 2022. Т. 41. № 3. С. 309–314. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar109090>

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar109090>
Review Article

Allogeneic osteoplastic materials for reconstructive surgery of combat injuries

Vladimir V. Khominets, Konstantin A. Vorobev, Margarita O. Sokolova,
Anastasia K. Ivanova, Artem V. Komarov

Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

The number of operations with the use of osteoplastic materials is increasing annually, which is explained by the increasing number of high-tech operations, reconstructive interventions for bone pathology, oncoorthopedics, bone deformities, as well as tissue defects resulting from combat trauma. Bone as an object of transplantation and is preferable because the use of bone tissue and materials made on its basis creates the necessary conditions for biological restoration of bone as an organ.

The modern trend is the development of regenerative medicine technologies and the development of modified materials with improved and predetermined properties — osteoplastic materials ceased to be static structures and their inertness gave way to functional activity.

The article describes the basic advantages of bone tissue and allogenic osteoplastic materials for their prospective use in reconstructive and reconstructive surgery of the musculoskeletal system. Data on the experience in the use of donor bone tissues for homoplasia at the clinic of military traumatology and orthopedics of the Kirov Military Medical Academy are presented. The advantages of allogeneic decellularized tissues for use in clinical and scientific practice are considered. The importance of preserving the architecture of native tissue for successful bone transplantation is shown. Decellularization is a method that allows the removal of immunogenic agents from tissues and organs, including cells and residual DNA, preserving the natural composition and architecture of the extracellular matrix for the most effective use of allogeneic bone tissue. The use of decellularized allogenic bone tissue purified to a mineral-collagen matrix or demineralized is the most practical option among other osteoplastic materials when large bone fragments need to be replaced.

Keywords: allogeneic materials; bone defect; bone graft; bone pathology; decellularized bone; osteoplastic materials; reconstructive and reconstructive surgery.

To cite this article:

Khominets VV, Vorobev KA, Sokolova MO, Ivanova AK, Komarov AV. Allogeneic osteoplastic materials for reconstructive surgery of combat injuries. *Russian Military Medical Academy Reports*. 2022;41(3):309–314. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar109090>

Received: 30.06.2022

Accepted: 13.07.2022

Published: 30.09.2022

Ткань человека — уникальная биологическая материя. По своему строению и функциональным свойствам она неповторима и в случаях массивных повреждений при минно-взрывных, оскольчатых и огнестрельных ранений бывает невосполнима за счет собственных регенеративных ресурсов [1, 2]. Использование аутологичных тканей для трансплантации бывает ограничено или невозможно, и в этом случае первой альтернативой становятся аллогенные ткани [3]. В отличие от других остеопластических материалов биологического и синтетического происхождения, при применении аллогенной донорской кости соблюдается один из главных принципов трансплантологии — принцип внутривидовой специфичности тканей.

Еще в XVII в. производили межвидовые пересадки тканей, а с развитием биотехнологии трансплантация становилась все более и более совершенной и безопасной [4, 5]. В настоящее время из различных донорских зон могут быть получены ткани, которые затем подвергаются обработке во избежание отторжения, инфекционного заболевания, воспаления. Наиболее распространенным объектом для трансплантации являются костные ткани. Большинство ранений сопровождается разрушением костей и контузией окружающих мягких тканей, что приводит к ухудшению трофики и развитию осложнений в виде обширных костных дефектов, требующих применения замещающих материалов. Применение консервированных тканей для восстановительных операций на опорно-двигательном аппарате — один из популярных методов хирургического лечения в клинике травматологии и ортопедии Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова (ВМедА). Большой вклад в развитие костной гомопластики внес С.С. Ткаченко, который опубликовал данные о пересадке консервированной кости 1197 пациентам — у 1028 (85,9 %) из них были благоприятные исходы, а у 169 (14,1 %) — отрицательные. Часть из них авторы объясняли недостаточным пониманием в то время механизмов трансплантационной иммунологии [6]. На базе научно-исследовательского центра ВМедА продолжают разрабатываться способы обработки костной ткани и создаются новые остеопластические материалы на ее основе с улучшенными свойствами для реконструктивной хирургии боевой травмы [7, 8].

По классификации Nandi, все остеопластические материалы подразделяются по биологическим и функциональным свойствам — остеоиндуктивность, остеокондуктивность и остеогенность. Золотым стандартом считается аутологичный костный трансплантат, обладающий всеми тремя свойствами. Однако ограниченное количество доступного для забора костного материала делает использование аутоотрансплантата затруднительным или невозможным для некоторых групп пациентов [3].

Современные методы хирургии костных дефектов с использованием аллотрансплантатов обеспечивают возможность лечения сложных повреждений. Например,

в онкологической хирургии реконструкция конечностей с помощью аллотрансплантатов позволяет восполнить дефект кости после обширной резекции опухоли. Костные аллотрансплантаты все чаще используются для пластики костной ткани при наличии дефектов критического размера, имеющих ограниченные свойства заживления. Однако стоит подчеркнуть, что при работе с аллогенными костными тканями есть риск миграции к реципиенту клеток, несущих на своей поверхности специфические молекулы гистосовместимости, увеличивающих вероятность развития воспаления, способного привести к нежизнеспособности трансплантата [9]. Тем не менее применение донорской костной ткани дает возможность получать крупные фрагменты аллогенного материала для реконструктивной хирургии. Их можно также получить при использовании ксеногенного материала. Превосходство аллогенной кости над ксеногенными костными заменителями было доказано как в доклинических, так и в клинических исследованиях благодаря наличию в них необходимых стимуляторов костной регенерации [10].

Децеллюляризация является методом, позволяющим удалить все иммуногенные агенты из тканей и органов, включая клетки и остаточную ДНК, сохранив при этом естественный состав и архитектуру внеклеточного матрикса для наиболее эффективного применения аллогенной костной ткани.

Децеллюляризованный матрикс имитирует нативную микросреду, сохраняет специфическую организацию и структуру, сходную с костной тканью, тем самым облегчая остеointegrацию трансплантируемых фрагментов материала [11].

Биоматериалы на основе децеллюляризованного матрикса применяются в качестве биоскаффолдов в инженерии костной ткани. Эти биоматериалы играют важную роль в обеспечении механического, физического и биохимического микроокружения, необходимого остеобластам для пролиферации и выживания. Децеллюляризованный внеклеточный матрикс может применяться как в виде цельных фрагментов, так и в виде гидрогеля и 3D-печатных каркасов [11].

Необходимо подчеркнуть важность сохранения архитектуры трансплантируемой ткани наиболее сходной с нативной. Для облегчения остеointegrации донорского участка крайне важны такие характеристики, как наличие пористости, определенных размера и формы пор [11].

Для стимуляции остеогенеза фрагменты децеллюляризованной ткани можно подвергнуть дополнительной постобработке. Так, модификация ксеногенного костного заменителя коллагеном типов I и III уже показала более интенсивное высвобождение факторов VEGF, PDGF и TGF- β по сравнению с костным заменителем без дополнительной постобработки коллагенами. Ремоделирование кости в этом случае идет успешнее, так как наблюдаются сигналы регенерации кости, такие как BMP-2,

FGF-2, TGF- β 1 и VEGF [10]. А гиалуронатсодержащий ксеноненный трансплантат в опытах *in vivo* на лабораторных животных показывает постепенную интеграцию в новообразованную кость, завершающуюся полным заживлением костного дефекта [12].

Для создания прототипа децеллюляризированной костной ткани, пригодной к трансплантации при боевой травме, необходимо оценивать инфекционную безопасность и гистосовместимость полученных материалов. Остеогенную активность и иммуногенность материалов необходимо оценить с помощью тестов на цитотоксичность, пролиферацию остеобластов, наличие остаточной ДНК и пролиферацию лимфоцитов периферической крови человека [13]. Для получения децеллюляризованного матрикса кости требуется высокоспециализированная лаборатория, что значительно снижает технологичность создания подобных трансплантатов. Также процесс децеллюляризации сопровождается обработкой химическими веществами — концентрированными кислотами, пергидролем и т. д., материал становится невосприимчивым к адгезии культивируемых клеток, соответственно, необходимы методы преодоления данной невосприимчивости [14].

Учитывая специфику заготовки аллогенного костного материала, необходим также подбор подходящих способов консервации и обработки фрагментов костной ткани. Необходимо тщательное планирование разработки способов децеллюляризации, делипидизации с проведением исследований на био- и гемосовместимость, изучение тканевой реакции на имплантацию согласно ГОСТ ISO 10993. В противном случае при имплантации реципиенту могут возникать неблагоприятные реакции в виде замедления процесса ревааскуляризации, ухудшения последующей остеоинтеграции. Присутствие липидов в ткани может

также стать причиной отторжения и инфицирования. [15, 16]. Физико-химические свойства и биodeградация различных видов остеопластических материалов могут отличаться, поэтому также необходимо оценивать процессы резорбции полученных образцов *in vivo*. Отсутствие тщательной и многостадийной обработки может привести к активации антигенной активности биологического материала, возникновению инфекционного заболевания и воспаления при трансплантации [17].

Применение децеллюляризированной аллогенной костной ткани, очищенной до минерально-коллагенового матрикса или деминерализованной, является наиболее практичным вариантом среди прочих остеопластических материалов при наличии необходимости замещения крупных фрагментов кости. Обладая нативной архитектурой, остеокондуктивными, остеоиндуктивными свойствами, аллокость способствует скорейшей регенерации поврежденного участка. А также характеризуется возможностью получения большого количества крупных фрагментов биоматериала для трансплантации, для чего необходим тщательный контроль очистки донорского костного материала, исключающий риск возникновения массивных воспалительных реакций или инфекции.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Финансирование данной работы не проводилось.

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

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Денисов А.В., Хомицев В.В., Логаткин С.М., и др. Разработка шкалы оценки тяжести минно-взрывных ранений защищенных нижних конечностей человека // Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2021. № 3 (75). С. 195–204. DOI: 10.17816/brmma73198
2. Тришкин Д.В., Крюков Е.В., Чуприна А.П., и др. Эволюция концепции оказания медицинской помощи раненым и пострадавшим с повреждениями опорно-двигательного аппарата // Военно-медицинский журнал. 2020. Т. 341, № 2. С. 4–11.
3. Baldwin P., Li D.J., Auston D.A., et al. Autograft, Allograft, and Bone Graft Substitutes: Clinical Evidence and Indications for Use in the Setting of Orthopaedic Trauma Surgery // J. Orthop. Trauma. 2019. Vol. 33, No. 4. P. 203–213. DOI: 10.1097/BOT.00000000000014203
4. Воробьев К.А., Божкова С.А., Тихилов Р.М., Черный А.Ж. Современные способы обработки и стерилизации аллогенных костных тканей (обзор литературы) // Травматология и ортопедия России. 2017. Т. 23, № 3. С. 134–147. DOI: 10.21823/2311-2905-2017-23-3-134-147
5. Caballe-Serrano J., Bosshart D., Buser D., Gruber R. Proteomic analysis of porcine bone-conditioned medium // Int. J. Oral. Maxillofac. Implants. 2014. Vol. 29, No. 5. P. 1208–1215d. DOI: 10.11607/jomi.3708
6. Ткаченко С.С. Костная гомопластика. Л.: Медицина, 1970. 296 с.
7. Пелешок С.А., Железняк И.С., Овчинников Д.В., и др. Опыт применения аддитивных технологий в военно-медицинских организациях и Военном инновационном технополисе «Эра» // Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2019. № 3 (67). С. 126–131.
8. Александров В.Н., Болехан В.Н., Бунтовская А.С., и др. Развитие клеточных технологий, молекулярно-генетических исследований и тканевой инженерии в Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова и Военном инновационном технополисе «Эра» // Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2019. № 3 (67). С. 243–248.
9. Nakamura T., Shirouzu T., Nakata K., Ushigome H. The Role of Major Histocompatibility Complex in Organ Transplantation- Donor Specific Anti-Major Histocompatibility Complex Antibodies Analysis

Goes to the Next Stage // *International journal of molecular sciences*. 2019. Vol. 20, No. 18. Art. 4544. DOI: 10.3390/ijms20184544

10. Staedt H., Dau M., Schiegnitz E., et al. A collagen membrane influences bone turnover marker in vivo after bone augmentation with xenogenic bone // *Head & Face Medicine*. 2020. Vol. 16, No. 1. Art. 35. DOI: 10.1186/s13005-020-00249-9

11. Amirazad H., Dadashpour M., Zarghami N. Application of decellularized bone matrix as a bioscaffold in bone tissue engineering // *Journal of biological engineering*. 2022. Vol. 16, No. 1. Art. 1. DOI: 10.1186/s13036-021-00282-5

12. Pröhl A., Batinic M., Alkildani S., et al. In Vivo Analysis of the Biocompatibility and Bone Healing Capacity of a Novel Bone Grafting Material Combined with Hyaluronic Acid // *International journal of molecular science*. 2021. Vol. 22, No. 9. Art. 4818. DOI: 10.3390/ijms22094818

13. Li Mao, Bai Y., Li Miao, Zhou J. [Performance evaluation of two antigen-extracted xenogeneic ostein and experimental study on repairing skull defects in rats] // *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai*

Ke Za Zhi. 2021. Vol. 35, No. 10. P. 1303–1310. [Article in Chinese] DOI: 10.7507/1002-1892.202103177

14. Деев Р.В., Исаев А.А., Кочиш А.Ю., и др. Использование ДКМ в качестве носителя для культуры стромальных клеток костного мозга в эксперименте. В сб.: *Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии. Материалы симпозиума*. М., 2007. С. 19–20.

15. Eagle M.J., Man J., Rooney P., et al. Assessment of an improved bone washing protocol for deceased donor human bone // *Cell Tissue Bank*. 2015. Vol. 16, No. 1. P. 83–90. DOI: 10.1007/s10561-014-9443-z

16. Smith C.A., Richardson S.M., Eagle M.J., et al. The use of a novel bone allograft wash process to generate a biocompatible, mechanically stable and osteoinductive biological scaffold for use in bone tissue engineering // *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*. 2015. Vol. 9, No. 5. P. 595–604. DOI: 10.1002/term.1934

17. Лазишвили Г.Д., Егиазарян К.А., Ратьев А.П., и др. Костная пластика — история и современность // *Московский хирургический журнал*. 2015. № 6 (46). С. 6–10.

REFERENCES

1. Denisov AV, Khominets VV, Logatkin SM, et al. Development of mine-blast trauma severity score for lower extremities in men. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2021;(3(75)): 195–204. (In Russ.) DOI: 10.17816/brmma73198

2. Trishkin DV, Kryukov EV, Chuprina AP, et al. The evolution of the concept of medical care for the wounded and injured with injuries of the musculoskeletal system. *Military Medical Journal*. 2020;341(2): 4–11. (In Russ.)

3. Baldwin P, Li DJ, Auston DA, et al. Autograft, Allograft, and Bone Graft Substitutes: Clinical Evidence and Indications for Use in the Setting of Orthopaedic Trauma Surgery. *J Orthop Trauma*. 2019;33(4):203–213. DOI: 10.1097/BOT.00000000000014203

4. Vorobev KA, Bozhkova SA, Tikhilov RM, Cherny AZ. Current Methods of Processing and Sterilization of Bone Allografts (review of literature). *Traumatology and Orthopedics of Russia*. 2017;23(3):134–147. (In Russ.) DOI: 10.21823/2311-2905-2017-23-3-134-147

5. Caballe-Serrano J, Bosshart D, Buser D, Gruber R. Proteomic analysis of porcine bone-conditioned medium. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2014;29(5):1208–1215d. DOI: 10.11607/jomi.3708

6. Tkachenko SS. *Kostnaya gomoplastika*. Leningrad: Meditsina Publisher; 1970. 296 p. (In Russ.)

7. Peleshok SA, Zheleznyak IS, Ovchinnikov DV, et al. The experience of application of additive technologies in the military medical organizations and the Military innovation technopolis “Era”. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2019;(3(67)): 126–131. (In Russ.)

8. Alexandrov VN, Bolekhan VN, Buntovskaya AS, et al. Development of cell technology, molecular genetics and tissue engineering in S.M. Kirov Military Medical Academy and Military Innovation Technopolis “Era”. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2019;(3(67)):243–248. (In Russ.)

9. Nakamura T, Shirouzu T, Nakata K, Ushigome H. The Role of Major Histocompatibility Complex in Organ Transplantation- Donor Specific Anti-Major Histocompatibility Complex Antibodies Analysis

Goes to the Next Stage. *International journal of molecular sciences*. 2019;20(18):4544. DOI: 10.3390/ijms20184544

10. Staedt H, Dau M, Schiegnitz E, et al. A collagen membrane influences bone turnover marker in vivo after bone augmentation with xenogenic bone. *Head & Face Medicine*. 2020;16(1):35. DOI: 10.1186/s13005-020-00249-9

11. Amirazad H, Dadashpour M, Zarghami N. Application of decellularized bone matrix as a bioscaffold in bone tissue engineering. *Journal of biological engineering*. 2022;16(1):1. DOI: 10.1186/s13036-021-00282-5

12. Pröhl A, Batinic M, Alkildani S, et al. In Vivo Analysis of the Biocompatibility and Bone Healing Capacity of a Novel Bone Grafting Material Combined with Hyaluronic Acid. *International journal of molecular science*. 2021;22(9):4818. DOI: 10.3390/ijms22094818

13. Li Mao, Bai Y, Li Miao, Zhou J. [Performance evaluation of two antigen-extracted xenogeneic ostein and experimental study on repairing skull defects in rats]. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*. 2021;35(10):1303–1310. (in Chinese) DOI: 10.7507/1002-1892.202103177

14. Deev RV, Isaev AA, Kochish AYU, et al. The use of DKM as a carrier for the culture of bone marrow stromal cells in the experiment. In: *Aktual'nye voprosy tkanevoy i kletochnoy transplantologii*. Symposium materials. Moscow; 2007. P. 19–20. (In Russ.)

15. Eagle MJ, Man J, Rooney P, et al. Assessment of an improved bone washing protocol for deceased donor human bone. *Cell Tissue Bank*. 2015;16(1):83–90. DOI: 10.1007/s10561-014-9443-z

16. Smith CA, Richardson SM, Eagle MJ, et al. The use of a novel bone allograft wash process to generate a biocompatible, mechanically stable and osteoinductive biological scaffold for use in bone tissue engineering. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*. 2015;9(5):595–604. DOI: 10.1002/term.1934

17. Lazishvili GD, Egiazaryan KA, Rat'ev AP, et al. Bone grafting — history and modernity. *Moscow Surgical Journal*. 2015(6(46)):6–10. (In Russ.)

ОБ АВТОРАХ

Владимир Васильевич Хоминец, докт. мед. наук, профессор;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9391-3316>;
Scopus Author ID: 6504618617; eLibrary SPIN: 5174-4433;
Author ID: 467378; e-mail: khominets_62@mail.ru

Константин Александрович Воробьев, канд. мед. наук,
научный сотрудник научно-исследовательского центра;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5757-2841>;
eLibrary SPIN: 5733-9790; Author ID: 914668;
e-mail: vorobyov_doc@mail.ru

***Мargarita Олеговна Соколова**, научный сотрудник научно-
исследовательского центра; адрес: Россия, 194044, г. Санкт-
Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3457-4788>;
eLibrary SPIN: 3683-6054; Author ID: 1016305;
e-mail: sokolova.rita@gmail.com

Анастасия Константиновна Иванова, preparator научно-ис-
следовательского центра; eLibrary SPIN: 6804-1474;
Author ID: 1155274; e-mail: fullmetal1999@mail.ru

Артем Владимирович Комаров, капитан мед. службы,
старший ординатор клиники военной травматологии
и ортопедии им. Г. И. Турнера; eLibrary SPIN: 2048-2037;
Author ID: 948702; e-mail: ximikatu@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

AUTHORS' INFO

Vladimir V. Khominets, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9391-3316>;
Scopus Author ID: 6504618617; eLibrary SPIN: 5174-4433;
Author ID: 467378; e-mail: khominets_62@mail.ru

Konstantin A. Vorobev, M.D., Ph.D. (Medicine) Researcher of the
Research Center ; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5757-2841>;
eLibrary SPIN: 5733-9790; Author ID: 914668;
e-mail: vorobyov_doc@mail.ru

***Margarita O. Sokolova**, Researcher of the Research Center;
address: 6, Akademika Lebedeva str., Saint Peterburg, 194044, Russia;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3457-4788>;
eLibrary SPIN: 3683-6054; Author ID: 1016305;
e-mail: sokolova.rita@gmail.com

Anastasia K. Ivanova, Preparator of the Research Center;
eLibrary SPIN: 6804-1474; Author ID: 1155274;
e-mail: fullmetal1999@mail.ru

Artem V. Komarov, M.D., Captain of Medical Service,
Senior Resident of the Turner Clinic of Military Traumatology and
Orthopedics; eLibrary SPIN: 2048-2037; Author ID: 948702;
e-mail: ximikatu@mail.ru

УДК 616.24-008.64-07:612.216.2]«COVID-19»
DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar108659>
Обзорная статья

Функциональные нарушения системы дыхания после перенесенной новой коронавирусной инфекции

О.И. Савушкина^{1, 2}, А.А. Зайцев^{1, 3}, Е.В. Крюков⁴, А.В. Черняк², М.М. Малащенко¹,
И.Ц. Кулагина^{1, 3}, С.А. Чернов¹, Н.А. Асеева¹

¹ Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н. Бурденко, Москва, Россия;

² Научно-исследовательский институт пульмонологии, Москва, Россия;

³ Московский государственный университет пищевых производств, Москва, Россия;

⁴ Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия

Новая коронавирусная инфекция — инфекционное заболевание, вызываемое вирусом SARS-CoV-2 и характеризующееся высоким уровнем заболеваемости и летальности. Она оказывает влияние на все органы и системы и часто протекает с поражением легких и дыхательной недостаточностью. У значительной части пациентов после острого периода новой коронавирусной инфекции сохраняются симптомы заболевания, при этом наиболее проблемными являются респираторные изменения, сохраняющиеся в ряде случаев длительное время.

Целью проведенных исследований было изучение функциональных показателей респираторной системы пациентов после перенесенной новой коронавирусной инфекции.

В представленном обзоре подведен итог нашей работы в 2020–2021 гг. Всем пациентам наряду с традиционными легочными функциональными исследованиями (спирометрией, бодиплетизмографией и диффузионным тестом) также выполнялись импульсная осциллометрия, вымывание азота при множественном дыхании, определение максимальных инспираторного и экспираторного давлений в полости рта. Таким образом, мы оценивали вентиляционную и газообменную функцию бронхолегочной системы, функциональное состояние периферических отделов легких, включая мелкие дыхательные пути, равномерность легочной вентиляции и силу дыхательных мышц в разные сроки выздоровления после новой коронавирусной инфекции, в том числе на фоне медицинской реабилитации.

В заключение можно сказать, что комплексная функциональная оценка системы дыхания является важным клиническим инструментом, позволяющим планировать фармакотерапию, составлять индивидуальные программы медицинской реабилитации пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию, и проводить наблюдение в динамике.

Ключевые слова: вирус-ассоциированное поражение легких; дисфункция мелких дыхательных путей; диффузионный тест; легочные функциональные тесты; новая коронавирусная инфекция; медицинская реабилитация; продолжающийся симптоматический COVID-19.

Как цитировать:

Савушкина О.И., Зайцев А.А., Крюков Е.В., Черняк А.В., Малащенко М.М., Кулагина И.Ц., Чернов С.А., Асеева Н.А. Функциональные нарушения системы дыхания после перенесенной новой коронавирусной инфекции // Известия Российской Военно-медицинской академии. 2022. Т. 41. № 3. С. 315–323. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar108659>

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar108659>

Review Article

Functional disorders of the respiratory system after a new coronavirus infection COVID-19

Olga I. Savushkina^{1, 2}, Andrey A. Zaicev^{1, 3}, Evgeniy V. Kryukov⁴, Alexander V. Chernyak²,
Maria M. Malashenko¹, Irina Ts. Kulagina^{1, 3}, Sergey A. Chernov¹, Natalia A. Aseeva¹

¹ Acad. N.N. Burdenko Main Military Clinical Hospital, Moscow, Russia;

² Pulmonology Scientific Research Institute, Moscow, Russia;

³ Moscow State University of Food Production, Moscow, Russia;

⁴ Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

COVID-19 (Coronavirus disease 2019) is an infectious disease caused by the coronavirus SARS-CoV-2, characterized by a high level of morbidity and mortality. A new coronavirus infection affects all organs and systems and often occurs with lung damage and respiratory failure. In a significant part of patients after the acute period of COVID-19, the symptoms of the disease persist, but the most problematic symptoms are the ones regarding lung damage that persists for a long amount of time.

This review summarizes the results of our research in 2020–2021. The purpose of the conducted studies was to estimate the functional parameters of the respiratory system in patients that have been infected by COVID-19. Along with conventional pulmonary function tests (spirometry, body plethysmography and diffusion test), impulse oscillometry, the multiple-breath nitrogen washout test, determination of the maximum inspiratory and expiratory pressures were performed in all patients. Thus, we evaluated the ventilation and gas exchange function of the bronchopulmonary system, the functional state of the peripheral parts of the lungs, including the small airways, the uniformity of pulmonary ventilation and the strength of the respiratory muscles in different periods of recovery after COVID-19, including the follow-up after medical rehabilitation.

To sum up, comprehensive functional assessment of the respiratory system is an important clinical tool that allows the planning of pharmacotherapy and to create individual programs of medical rehabilitation of patients who had COVID-19.

Keywords: diffusion test; long-term COVID-10; medical rehabilitation; new coronavirus infection; pulmonary functional test; small airways dysfunction; virus-associated lung damage.

To cite this article:

Savushkina OI, Zaicev AA, Kryukov EV, Chernyak AV, Malashenko MM, Kulagina ITs, Chernov SA, Aseeva NA. Functional disorders of the respiratory system after a new coronavirus infection COVID-19. *Russian Military Medical Academy Reports*. 2022;41(3):315–323. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar108659>

Received: 09.06.2022

Accepted: 18.06.2022

Published: 30.09.2022

Новая коронавирусная инфекция (COVID-19), вызываемая вирусом SARS-CoV-2 (от англ. severe acute respiratory syndrome coronavirus 2), является наиболее актуальной проблемой практического здравоохранения в связи с крайне высокой заболеваемостью и большим числом летальных исходов. Известно, что COVID-19 вызывает вирус-ассоциированное поражение легких, которое патоморфологически расценивается как диффузное альвеолярное повреждение, сопровождающееся гипоксией и дыхательной недостаточностью [1]. «Золотым» стандартом для выявления и определения степени выраженности поражения легких при COVID-19 является компьютерная томография (КТ) органов грудной клетки с высоким разрешением.

Однако важным критерием понимания генеза поражения бронхолегочной системы при данном заболевании, полноты выздоровления и определения показаний для последующего лечения и медицинской реабилитации (МР) являются показатели респираторной функции.

Таким образом, целью наших исследований являлось изучение функциональных показателей респираторной системы пациентов после перенесенного COVID-19 с помощью традиционных легочных функциональных тестов (ЛФТ), таких как спирометрия, бодиплетизмография, диффузионный тест, а также импульсной осциллометрии (ИОС), вымывания азота при множественном дыхании (ВАМД), определения максимальных инспираторного и экспираторного давлений в полости рта (показателей MIP и MEF соответственно).

Так, в наше первое исследование было включено 32 пациента, 84 % мужчин, средний возраст которых составил 48 лет. Максимальный объем поражения легочной ткани в острый период заболевания по данным КТ у этих пациентов составил в среднем 51 %. В среднем на 49-й день от начала заболевания всем им были выполнены спирометрия, бодиплетизмография и диффузионный тест. При анализе полученных показателей системы дыхания установлено, что нарушение диффузионной способности легких (ДСЛ) является наиболее частым функциональным отклонением внешнего дыхания после COVID-19, так как у 56 % пациентов было выявлено снижение параметра трансфер-фактора монооксида углерода (DLCO). Напротив, вентиляционных нарушений у большинства пациентов (84,4 %) выявлено не было. Кроме того, было показано, что снижение DLCO было преимущественно легкой степени (>60 % от должного). Исключение составили 5 пациентов (15,6 %), перенесших тяжелое течение COVID-19 с массивным поражением обоих легких и сохраняющимися изменениями по данным КТ на момент включения в исследование, у которых было зарегистрировано снижение DLCO умеренной и тяжелой степени.

На основании проведенного исследования было сделано заключение, что больным, перенесшим COVID-19, целесообразно выполнять измерение ДСЛ и при наличии

изменений умеренной и тяжелой степени планировать фармакотерапевтические мероприятия по их коррекции [2].

Далее объем выборки был увеличен до 44 пациентов, из них 35 (79,5 %) мужчин, средний возраст которых составил 48 лет. Всем пациентам также были выполнены традиционные ЛФТ. В зависимости от величины максимального поражения легких по данным КТ пациенты были разделены на 2 группы: 1-я группа (22 пациента) — КТ-1 и 2 (поражение легких в острый период заболевания менее 50 %); 2-я группа (22 пациента) — КТ-3 и 4 (поражение легких в острый период заболевания 50 % и более). Результаты работы показали, что тенденция к преимущественному нарушению ДСЛ после перенесенного COVID-19 сохранялась, так как через 30–60 дней после завершения лечения в стационаре у 52 % пациентов было выявлено снижение DLCO, тогда как вентиляционные показатели в среднем по группе оставались в пределах нормальных значений. Кроме того, было показано, что степень функциональных нарушений системы дыхания в период раннего выздоровления зависела от площади поражения легочной ткани в острый период заболевания [3].

Результаты полученных нами данных согласуются с данными Torres-Castro R. с соавт., которые показали, что после перенесенного COVID-19 в раннюю фазу реконвалесценции (до 3 мес от начала заболевания) частота снижения ДСЛ составляет 39 % (доверительный интервал (ДИ) 24–56 %), рестриктивных вентиляционных нарушений — 15 % (ДИ 9–22 %), обструкции дыхательных путей (ДП) — 7 % (ДИ 4–11 %) [4]. Таким образом, авторы сделали вывод, что наиболее частым функциональным нарушением системы дыхания в раннем постковидном периоде является нарушение ДСЛ.

Наблюдение за пациентами в период выздоровления после COVID-19 показывает, что у части из них длительное время сохраняется достаточно широкий спектр жалоб, таких как одышка, усталость, утомляемость, мышечная слабость, нарушение сна, кашель, тахикардия, что дало основание для введения нового термина: продолжающийся симптоматический COVID-19 (long-term COVID-19). С целью выявления причин жалоб и составления индивидуальных программ МР в перечень обследования таких пациентов должны быть включены в том числе функциональные исследования системы дыхания.

Таким образом, целью нашей следующей работы явилась оценка динамики функциональных показателей системы дыхания у больных, перенесших COVID-19 [5]. Было выполнено проспективное продольное исследование, в которое был включен 31 пациент, из них 84 % мужчины, медиана возраста которых составила 49 лет. По данным КТ в острый период заболевания у обследованных пациентов были выявлены интерстициальные изменения легочной ткани, характерные для SARS-CoV-2. Медиана максимальной площади поражения легких в острую фазу по данным КТ в целом по группе составила 67 % (КТ-3).

На момент выполнения функциональных исследований системы дыхания у пациентов сохранялись остаточные изменения в легких различной степени выраженности.

Функциональные исследования респираторной функции были проведены в два этапа: 1-й — в среднем на 44 день от начала заболевания, 2-й — в среднем через 102 дня после 1-го, и включали как традиционные ЛФТ, так и ИОС.

Анализ полученных данных показал, что во время 1-го исследования в среднем по группе показатели традиционных ЛФТ были в пределах нормальных значений, за исключением ДСЛ, которая была снижена у 77 % пациентов в легкой (на границе с умеренной) степени. Во время 2-го исследования, через 102 дня после 1-го, в среднем по группе сохранялось нарушение ДСЛ у 58 %. При сравнительном анализе двух групп было выявлено статистически значимое улучшение вентиляционной и газообменной функций легких.

Показатели ИОС в среднем по группе сохранялись в пределах нормальных значений. Однако в 26 % случаев были выявлены или стали более выраженными патологические отклонения таких показателей ИОС, как R5-R20 (абсолютная частотная зависимость резистанса на частоте осцилляций 5 и 20 Гц), что является признаком дисфункции мелких ДП и АХ (площадь реактанса), который характеризует ригидность периферических отделов легких, несмотря на положительную динамику показателей традиционных ЛФТ, в некоторых случаях даже при их нормализации [6, 7]. Следовательно, в план обследования пациентов, перенесших COVID-19, целесообразно включать ИОС с целью своевременного выявления и коррекции функциональных нарушений системы дыхания, которые не удается установить с помощью традиционных ЛФТ [5].

При динамическом наблюдении за пациентами после перенесенного COVID-19 обращает на себя внимание значительно более высокая частота выявления нарушения ДСЛ в ранний период выздоровления по сравнению с данными, полученными на предыдущих этапах исследования [5]. С нашей точки зрения, увеличение частоты наблюдаемого отклонения обусловлено тем, что пациенты с тяжелым течением COVID-19 более комплаентны наблюдению в динамике, они охотнее приходят на повторные обследования, которые необходимо проводить с целью мониторингирования сохраняющихся нарушений и оптимизации программ МР.

Кроме того, обращает на себя внимание длительно сохраняющиеся (более 3 мес) нарушения газообменной функции легких после перенесенного COVID-19. Анализ литературы показал, что появляется все больше доказательств нарушения легочной гемодинамики в патогенезе COVID-19. Так, согласно мнению B.V. Patel с соавт., при проникновении в организм вирус SARS-CoV-2 связывается с рецепторами ангиотензинпревращающего фермента 2-го типа, большое количество которых экспрессируется в эндотелии легочных сосудов, что обуславливает тяжелое повреждение эндотелиальных мембран легочных

капилляров, вызывая ангиопатию, тромбоз и нарушение перфузии легких [8]. М.В. Самсонова с соавт. при анализе гистологических изменений в легких показали, что наиболее часто в отдаленном постковидном периоде выявляются нарушения микроциркуляции, сопровождающиеся мелкими участками острого повреждения легких [9]. Выполнив однофотонную эмиссионную компьютерную томографию легких (ОФЭКТ) 136 пациентам, перенесшим COVID-19, В.П. Золотницкая с соавт. пришли к выводу, что у всех обследованных больных, независимо от степени тяжести перенесенного заболевания по данным КТ, выявляются нарушения микроциркуляции в легких [10].

В свою очередь Н.А. Карчевская с соавт. провели исследование, целью которого была динамическая оценка постковидных изменений с помощью рентгенологических, радионуклидных, функциональных и лабораторных методов исследования [11]. В исследование был включен 71 пациент после перенесенной COVID-19 тяжелого течения с объемом поражения не менее 50 % (КТ-3, КТ-4). В группе пациентов, обследованных в поздние сроки (с 61-го по 180-й день после выписки из стационара), показатели вентиляционной функции легких были в пределах нормы, тогда как снижение ДСЛ в данной группе отмечалось у 33 % пациентов. Таким образом, авторы сделали заключение, что в период выздоровления после COVID-19 наиболее значимым функциональным изменением является снижение ДСЛ, а также показали, что степень снижения ДСЛ зависела от объема поражения паренхимы легких в острой фазе заболевания, что согласуется с данными наших исследований [2, 3, 5]. Выполнив вентиляционно-перфузионную сцинтиграфию в режиме ОФЭКТ/КТ, Н.А. Карчевская с соавт. выявили дефицит перфузии легких с явной тенденцией к его уменьшению в более поздние сроки.

Следовательно, разумно предположить, что ведущим механизмом снижения ДСЛ в постковидном периоде при отсутствии выраженных рентгенологических изменений легочной ткани, вероятнее всего, является нарушение микроциркуляции в малом круге кровообращения. Поэтому измерение параметра DLCO целесообразно выполнять всем пациентам, перенесшим COVID-19, с целью выявления снижения ДСЛ, ее адекватной коррекции и динамического наблюдения на фоне лечения.

В рекомендациях по ведению больных, перенесших COVID-19, мы найдем практическое применение данным исследованиям [12]. Так, у пациентов с одышкой при физической нагрузке без признаков поражения легких по данным КТ через 3–6 мес после выписки из инфекционного стационара и с результатами ЛФТ, документирующими сохраненные легочные объемы и сниженный DLCO, последующая оценка должна включать эхокардиографию для определения давления в легочной артерии и выявления изменений со стороны правых отделов сердца, а также КТ с контрастным усилением для выявления поражения легочных сосудов. В ряде случаев КТ

с контрастным усилением не может исключить хроническую тромбоэмболию легочной артерии, в связи с чем рекомендовано использовать возможности ОФЭКТ и двухэнергетической КТ. Также в некоторых случаях целесообразно привлечение ангиопульмонографии.

Результаты перечисленных выше функциональных и визуализирующих методов исследования легких дают важную информацию для составления индивидуальных программ медицинской реабилитации (ИПМР). Целью МР пациентов после перенесенного COVID-19 является восстановление функциональных нарушений респираторной системы, транспорта кислорода и его потребления тканями, толерантности к физическим нагрузкам, психоэмоциональной стабильности, активности и участия в повседневной жизни [13].

В нашем госпитале при нарушении ДСЛ назначалась лазеротерапия с целью улучшения легочной микроциркуляции, уменьшения агрегации тромбоцитов, повышения тромборезистентности, уменьшения проницаемости сосудов и экссудации, противовоспалительного действия. Лазеротерапия активно сочеталась с назначением низкочастотной магнитотерапии для улучшения локального кровоснабжения и метаболизма, торможения выброса гистамина и иных факторов воспаления из тучных клеток и базофилов, повышения содержания гепарина в тканях и крови, усиления локального транскапиллярного обмена. При рестриктивном типе вентиляционных нарушений в ИПМР были включены медицинский массаж грудной клетки с коррекцией мышечных триггеров и миофасциальным релизом дыхательных мышц, при обструкции ДП применялись импульсные синусоидально модулированные токи на грудную клетку [14, 15].

После прохождения курса МР выполнялись повторные функциональные исследования системы дыхания всех пациентов, анализ результатов которых показал улучшение легочной вентиляции и ДСЛ, а также было установлено уменьшение одышки (по шкале mMRC) и улучшение качества жизни пациентов (оценка проводилась по визуально-аналоговой шкале качества жизни — VAS), что свидетельствовало об эффективности применяемых нами методов МР в период восстановления после COVID-19 [14–16].

Принимая во внимание значимость исследования ДСЛ после перенесенного COVID-19, нами была опубликована лекция, посвященная теоретическим основам диффузионного теста и его клиническому применению, в том числе у больных, перенесших COVID-19 [17].

На следующем этапе нашей работы мы использовали метод вымывания азота при множественном дыхании с целью оценки равномерности легочной вентиляции у перенесших COVID-19 пациентов [18]. По данным литературы и нашим собственным исследованиям, как было описано выше, наиболее частым функциональным отклонением системы дыхания в ранний период выздоровления после COVID-19 является нарушение ДСЛ, реже встречается рестриктивный тип нарушения вентиляции, еще реже — обструкция ДП. Однако данных о нарушении

равномерности легочной вентиляции после перенесенного COVID-19 в доступной нам литературе найдено не было.

В поперечное исследование были включены 35 пациентов (97 % мужчин, средний возраст которых составил 44 года). Всем пациентам были выполнены спирометрия, бодиплетизмография, исследование ДСЛ, ВАМД, ИОС на 72-й день от начала заболевания COVID-19. Неравномерность легочной вентиляции была выявлена у 40 % больных, тогда как нарушение ДСЛ — у 23 %, обструкция ДП — у 11,4 %, рестриктивный тип вентиляционных нарушений — у 8,6 %. Кроме того, были выявлены патологические отклонения таких показателей ИОС, как АХ, который, как было сказано выше, характеризует ригидность периферических отделов легких, и R5-R20, что является признаком дисфункции мелких дыхательных путей (ДМДП), в 20 и 14,3 % случаев соответственно [18].

Следовательно, можно с определенной степенью уверенности утверждать, что в патологический процесс COVID-19 вовлекается не только паренхима легких, но и дистальные отделы ДП, причем ДМДП является наиболее частым функциональным отклонением COVID-19, за которым следует нарушение ДСЛ [19]. Таким образом, равномерность легочной вентиляции целесообразно исследовать у пациентов, у которых после перенесенного COVID-19, протекающего с поражением легких, на фоне жалоб на одышку при незначительных физических нагрузках показатели традиционных ЛФТ сохраняются в пределах нормальных значений, с тем чтобы скорректировать ИПМР с учетом сопутствующей патологии.

Кроме того, нами была подготовлена лекция, в которой мы рассмотрели разные подходы оценки равномерности вентиляции и ДМДП, в том числе после перенесенного COVID-19. Из трех доступных на сегодняшний день методов диагностики данной патологии, а именно ВАМД, ИОС, а также расчет индекса неэффективности легочной вентиляции (индекс PCF — poorly communicating fraction) с помощью совместного применения бодиплетизмографии и диффузионного теста, самым оптимальным, по нашему мнению, является метод ВАМД [20].

Целью следующего нашего исследования было оценить силу дыхательных мышц (ДМ) у больных, перенесших COVID-19, и выявить взаимосвязь параметров MIP и MEP с другими функциональными показателями системы дыхания. Основанием для проведения данного исследования послужило то, что снижение силы ДМ является частью общего синдрома нейропатии и миопатии, обусловленного течением COVID-19.

Снижение силы ДМ следует ожидать в случаях крайне тяжелого течения COVID-19, а именно у пациентов с синдромом последствий интенсивной терапии (ПИТ-синдромом), при котором выявляются такие отклонения, как слабость скелетной мускулатуры с уменьшением объема ее массы, снижение физической работоспособности, дисфункция диафрагмы с возможным развитием ее атрофии. Измерение параметров MIP и MEP в динамике

у таких пациентов позволит более корректно подобрать пороговую нагрузку, устанавливаемую на дыхательных тренажерах, применяемых в программе МР, и прогнозировать исход выявленных нарушений.

Таким образом, в обсервационное поперечное исследование были включены 36 пациентов (26 мужчин, медиана возраста которых составила 47 лет). Критерием включения был наличие подтвержденного диагноза перенесенного COVID-19 среднетяжелого или тяжелого течения, осложненного двусторонним вирусным поражением легких. Критерием исключения было хроническое легочное заболевание в анамнезе. Всем пациентам в процессе одного визита были выполнены функциональные исследования респираторной системы, а именно спирометрия, бодиплетизмография, измерение ДСЛ и силы ДМ. Анализ полученных результатов показал, что у пациентов, перенесших COVID-19, снижение силы экспираторной мускулатуры выявляется в 31 % случаев, инспираторной — в 14 % случаев. Статистически значимой взаимосвязи параметров MIP и MEP с показателями вентиляции и легочного газообмена установлено не было [21].

Следовательно, исследование силы ДМ целесообразно включать в план обследования пациентов, перенесших COVID-19, с целью своевременного выявления их дисфункции и коррекции ИПМР.

Необходимо отметить, что COVID-19 имеет широкий спектр негативного физиологического воздействия, которому в большей степени подвержены пациенты с хроническими заболеваниями. Кроме того, COVID-19 может осложняться в том числе поражением легких. Следовательно, у больных хроническими заболеваниями бронхолегочной системы или заболеваниями, требующими назначения лекарственных препаратов, которые у части пациентов индуцируют лекарственный пневмонит или бронхолит, COVID-19 может протекать более тяжело и обуславливать выраженные функциональные нарушения бронхолегочной системы. Так, на примере больного анкилозирующим спондилитом (АС) нам удалось пронаблюдать динамику функциональных показателей системы дыхания до и после перенесенного COVID-19. Мы показали, что в ранний период реконвалесценции у больного АС на фоне исходных вентиляционных

и газообменных нарушений отмечались более выраженные изменения показателей ЛФТ, что указывает на необходимость более длительного лечения и проведения обязательной МР таким пациентам после перенесенного COVID-19 [22].

Подводя итог проделанной работе, можно сказать, что поражение легочной ткани и нарушение легочной микроциркуляции — это основные патоморфологические отклонения, которые являются причиной нарушения респираторной функции легких в постковидном периоде. Для своевременного выявления функциональных последствий этих нарушений в план обследования пациентов, перенесших COVID-19, целесообразно включать наряду со спирометрией диффузионный тест с целью исследования газообменной функции легких, бодиплетизмографию для выявления рестриктивного типа вентиляционных нарушений, импульсную осциллометрию для диагностики функционального состояния периферических отделов легких, метод вымывания азота при множественном дыхании для выявления неравномерности легочной вентиляции, исследование силы дыхательных мышц для определения эффективности их работы. Таким образом, комплексное функциональное обследование пациентов, перенесших COVID-19, позволит своевременно диагностировать функциональные нарушения респираторной системы, проводить их адекватную коррекцию и контролировать в динамике.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Финансирование данной работы не проводилось.

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

Этическая экспертиза. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь им. академика Н.Н. Бурденко».

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зайцев А.А. Письмо в редакцию // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2020. Т. 22, № 2. С. 84–86. DOI: 10.36488/смач.2020.2.84–86
2. Зайцев А.А., Савушкина О.И., Черняк А.В., и др. Клинико-функциональная характеристика пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию COVID-19 // Практическая пульмонология. 2020. № 1. С. 78–81.
3. Савушкина О.И., Черняк А.В., Крюков Е.В., и др. Функциональные нарушения системы дыхания в период раннего выздоровления после COVID-19 // Медицинский алфавит. 2020. № 25. С. 7–12. DOI: 10.33667/2078-5631-2020-25-7-12
4. Torres-Castro R., Vasconcello-Castillo L., Alsina-Restoy X., et al. Respiratory function in patients post-infection by COVID-19: a systematic review and meta-analysis // Pulmonology. 2021. Vol. 27, No. 4. P. 328–337. DOI: 10.1016/j.pulmoe.2020.10.013
5. Савушкина О.И., Черняк А.В., Крюков Е.В., и др. Динамика функционального состояния системы дыхания через 4 месяца после перенесенного COVID-19 // Пульмонология. 2021. Т. 31, № 5. С. 580–587. DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-5-580-587

6. Galant S.P., Komarow H.D., Shin H.W., et al. The case for impulse oscillometry in the management of asthma in children and adults // *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2017. Vol. 118, No. 6. P. 664–671. DOI: 10.1016/j.anai.2017.04.009
7. Lipworth B.J., Jabbal S. What can we learn about COPD from impulse oscillometry? // *Respir. Med.* 2018. Vol. 139. P. 106–109. DOI: 10.1016/j.rmed.2018.05.004
8. Patel B.V., Arachchillage D.J., Ridge C.A., et al. Pulmonary Angiopathy in Severe COVID-19: Physiologic, Imaging, and Hematologic Observations // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2020. Vol. 202, No. 5. P. 690–699. DOI: 10.1164/rccm.202004
9. Самсонова М.В., Конторщиков А.С., Черняев А.Л., и др. Патогистологические изменения в легких в отдаленные сроки после COVID-19 // *Пульмонология.* 2021. Т. 31, № 5. С. 571–579. DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-5-571-579
10. Золотницкая В.П., Титова О.Н., Кузубова Н.А., и др. Изменения микроциркуляции в легких у пациентов, перенесших COVID-19 // *Пульмонология.* 2021. Т. 31, № 5. С. 588–597. DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-5-588-597
11. Карчевская Н.А., Скоробогач И.М., Черняк А.В., и др. Результаты отдаленного обследования пациентов после COVID-19 // *Терапевтический архив.* 2022. Т. 94, № 3. С. 378–388. DOI: 10.26442/00403660.2022.03.201399
12. Зайцев А.А., Лещенко И.В. Продолжающийся симптоматический COVID-19 — практические рекомендации // *Consilium Medicum.* 2022. Т. 24, № 3. С. 209–212. DOI: 10.26442/20751753.2022.3.201531
13. Временные методические рекомендации «Медицинская реабилитация при новой коронавирусной инфекции (COVID-19)». Версия 2 (31.07.2020). Режим доступа: https://www.edu.rosminzdrav.ru/fileadmin/user_upload/specialists/COVID-19/dop-materials/VMR_medreabilitacija_COVID_versija2.pdf. Дата обращения 01.06.2022.
14. Крюков Е.В., Савушкина О.И., Малашенко М.М., и др. Влияние комплексной медицинской реабилитации на функциональные показатели системы дыхания и качество жизни у больных, перенесших COVID-19 // *Бюллетень физиологии и патологии дыхания.* 2020. № 78. С. 84–90. DOI: 10.36604/1998-5029-2020-78-84-91
15. Савушкина О.И., Зайцев А.А., Малашенко М.М., и др. Роль функционального исследования системы дыхания в оценке эффективности медицинской реабилитации пациентов, перенесших COVID-19 // *Медицинский альянс.* 2021. Т. 9, № 3. С. 82–88. DOI: 10.36422/23076348-2021-9-3-82-88
16. Savushkina O.I., Cherniak A.V., Malashenko M.M., Kryukov E.V. Medical rehabilitation of patients after COVID-19 and its impact on lung function and quality of life // *Eur. Respir. J.* 2021. Vol. 58. Art. PA2509. DOI: 10.1183/13993003.congress-2021.PA2509
17. Савушкина О.И., Зайцев А.А., Черняк А.В., и др. Диффузионная способность легких при обследовании пациентов, перенесших COVID-19 // *Практическая пульмонология.* 2020. № 4. С. 34–38.
18. Крюков Е.В., Савушкина О.И., Черняк А.В., Кулагина И.Ц. Диагностика неравномерности легочной вентиляции методом вымывания азота при множественном дыхании у больных, перенесших COVID-19 // *Пульмонология.* 2021. Т. 31, № 1. С. 30–36. DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-1-30-36
19. Savushkina O.I., Cherniak A.V., Zaicev A.A., Kryukov E.V. Ventilation heterogeneity after COVID-19 // *Eur. Respir. J.* 2021. Vol. 58. Art. OA2681. DOI: 10.1183/13993003.congress-2021.OA2681
20. Савушкина О.И., Черняк А.В. Методы диагностики дисфункции мелких дыхательных путей и равномерности вентиляции легких: их применение после перенесенной новой коронавирусной инфекции // *Бюллетень физиологии и патологии дыхания.* 2022. № 84. С. 137–143. DOI: 10.36604/1998-5029-2022-84-137-143
21. Савушкина О.И., Малашенко М.М., Черняк А.В., и др. Исследование силы дыхательных мышц у больных, перенесших COVID-19 // *Медицина экстремальных ситуаций.* 2021. Т. 23, № 3. С. 55–60. DOI: 10.47183/mes.2021.025
22. Савушкина О.И., Зайцев А.А., Малашенко М.М., и др. Функциональные нарушения системы дыхания у больных анкилозирующим спондилитом и их динамика после перенесенной новой коронавирусной инфекции // *Вестник современной клинической медицины.* 2022 (в печати).

REFERENCES

1. Zaicev AA. Letter to editors. *Klinicheskaya Mikrobiologiya i Antimikrobnaya Himioterapiya.* 2020;22(2):84–86. (In Russ.) DOI: 10.36488/cmasc.2020.2.84-86
2. Zaicev AA, Savushkina OI, Chernyak AV, et al. Clinical and Functional Characteristics of Patients Who Recovered from the Novel Coronavirus Infection (COVID-19). *Prakticheskaya pul'monologiya.* 2020;(1):78–81. (In Russ.)
3. Savushkina OI, Cherniak AV, Kryukov EV, et al. Pulmonary function after COVID-19 in early convalescence phase. *Medical alphabet.* 2020;(25):7–12. (In Russ.) DOI: 10.33667/2078-5631-2020-25-7-12
4. Torres-Castro R, Vasconcello-Castillo L, Alsina-Restoy X, et al. Respiratory function in patients post-infection by COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Pulmonology.* 2021;27(4):328–337. DOI: 10.1016/j.pulmoe.2020.10.013
5. Savushkina OI, Cherniak AV, Kryukov EV, et al. Follow-up pulmonary function of COVID-19 patients 4 months after hospital discharge. *Pul'monologiya.* 2021;31(5):580–587. (In Russ.) DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-5-580-587
6. Galant SP, Komarow HD, Shin HW, et al. The case for impulse oscillometry in the management of asthma in children and adults. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2017;118(6):664–671. DOI: 10.1016/j.anai.2017.04.009
7. Lipworth BJ, Jabbal S. What can we learn about COPD from impulse oscillometry? *Respir Med.* 2018;139:106–109. DOI: 10.1016/j.rmed.2018.05.004
8. Patel BV, Arachchillage DJ, Ridge CA, et al. Pulmonary Angiopathy in Severe COVID-19: Physiologic, Imaging, and Hematologic Observations. *Am J Respir Crit Care Med.* 2020;202(5):690–699. DOI: 10.1164/rccm.202004
9. Samsonova MV, Kontorshchikov AS, Chernyaev AL, et al. Long-term pathological changes in lungs after COVID-19. *Pul'monologiya.* 2021;31(5):571–579. (In Russ.) DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-5-571-579
10. Zolotnitskaya VP, Titova ON, Kuzubova NA, et al. Changes in pulmonary microcirculation after COVID-19. *Pul'monologiya.* 2021;31(5):588–597. (In Russ.) DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-5-588-597

11. Karchevskaya NA, Skorobogach IM, Cherniak AV, et al. Long-term follow-up study of post-COVID-19 patients. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2022;94(3):378–388. (In Russ.) DOI: 10.26442/00403660.2022.03.201399
12. Zaicev AA, Leshchenko IV. Ongoing symptomatic COVID-19 — practical advice: A review. *Consilium Medicum*. 2022;24(3):209–212. (In Russ.) DOI: 10.26442/20751753.2022.3.201531
13. *Vremennye metodicheskiye rekomendatsii "Meditsinskaya rehabilitatsiya pri novoy koronavirusnoy infektsii COVID-19" versiya 2 ot 31.07.2020*. Available from: https://www.edu.rosminzdrav.ru/fileadmin/user_upload/specialists/COVID-19/dop-materials/VMR_medreabilitacija_COVID_versija2.pdf (In Russ.)
14. Kryukov EV, Savushkina OI, Malashenko MM, et al. Influence of Complex Medical Rehabilitation on Pulmonary Function and Quality of Life in Patients after COVID-19. *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration*. 2020;(78):84–90. (In Russ.) DOI: 10.36604/1998-5029-2020-78-84-91
15. Savushkina OI, Zaytsev AA, Malashenko MM, et al. The role of functional research of the respiratory system in assessing the effectiveness of rehabilitation of patients after COVID-19. *Medical Alliance*. 2021;9(3):82–88. (In Russ.) DOI: 10.36422/23076348-2021-9-3-82-88
16. Savushkina OI, Cherniak AV, Malashenko MM, Kryukov EV. Medical rehabilitation of patients after COVID-19 and its impact

- on lung function and quality of life. *Eur Respir J*. 2021;58:PA2509. DOI:10.1183/13993003.congress-2021.PA2509
17. Savushkina OI, Zaicev AA, Chernyak AV, et al. Lung diffusion capacity in the examination of patients with COVID-19. *Prakticheskaya pul'monologiya*. 2020;(4):34–38. (In Russ.)
18. Kryukov EV, Savushkina OI, Chernyak AV, Kulagina C. Diagnosing ventilation inhomogeneity after COVID-19 by multiple-breath nitrogen washout test. *Pul'monologiya*. 2021;31(1):30–36. (In Russ.) DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-1-30-36
19. Savushkina OI, Cherniak AV, Zaicev AA, Kryukov EV. Ventilation heterogeneity after COVID-19. *Eur Respir J*. 2021;58:OA2681. DOI: 10.1183/13993003.congress-2021.OA2681
20. Savushkina OI, Chernyak AV. Methods for diagnosing dysfunction of the lungs of the lungs and lungs of the lungs: their use after a new coronavirus infection. *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration*. 2022;(84):137–143. (In Russ.) DOI: 10.36604/1998-5029-2022-84-137-143
21. Savushkina OI, Malashenko MM, Chernik AV, et al. Respiratory muscle strength in patients after COVID-19. *Extreme Medicine*. 2021;23(3):55–60. (In Russ.) DOI: 10.47183/mes.2021.025
22. Savushkina OI, Zaicev AA, Malashenko MM, et al. Lung function disorders in patients with ankylosing spondylitis and their dynamics after a new coronavirus infection COVID-19. *Vestnik sovremennoy klinicheskoy meditsiny*. 2022 (in press). (In Russ.)

ОБ АВТОРАХ

***Ольга Игоревна Савушкина**, канд. биол. наук, зав. отделением исследований функции внешнего дыхания центра функционально-диагностических исследований, ст. науч. сотр. лаборатории функциональных и ультразвуковых методов исследования; адрес: Россия, 115682, г. Москва, Ореховый бульвар, д. 28 С; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7486-4990>; eLibrary SPIN: 2988-8700; Author ID: 964904; e-mail: olga-savushkina@yandex.ru

Андрей Алексеевич Зайцев, докт. мед. наук, профессор, заслуженный врач РФ, главный пульмонолог, зав. кафедрой пульмонологии (с курсом аллергологии); ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0934-7313>; eLibrary SPIN: 6549-5154; Author ID: 217005; e-mail: a-zaicev@yandex.ru

Евгений Владимирович Крюков, академик РАН, докт. мед. наук, профессор, начальник; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8396-1936>; Scopus Author ID: 57208311867; eLibrary SPIN: 3900-3441; Author ID: 879052; Researcher ID: AAO-9491-2020; e-mail: evgeniy.md@mail.ru

Александр Владимирович Черняк, канд. мед. наук, зав. лабораторией функциональных и ультразвуковых методов исследования; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2001-5504>; eLibrary SPIN: 9328-6440; Author ID: 687383; e-mail: achi2000@mail.ru

AUTHORS' INFO

***Olga I. Savushkina**, Ph. D. (Biology), the Head of Lung Function Testing Department, Center of Functional Diagnostic Investigations, Senior Scientist of the Laboratory of Functional and Ultrasonic Research Methods; address: 28 C, Orekhovy Blvd, Moscow, 115682, Russia; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7486-4990>; eLibrary SPIN: 2988-8700; Author ID: 964904; e-mail: olga-savushkina@yandex.ru

Andrey A. Zaicev, M.D., D. Sc. (Medicine), Professor, Honored Doctor of the Russian Federation, Chief Pulmonologist, the Head of the Pulmonology (with a course in Allergology) Department; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0934-7313>; eLibrary SPIN: 6549-5154; Author ID: 217005; e-mail: a-zaicev@yandex.ru

Evgeniy V. Kryukov, Academician of the Russian Academy of Sciences, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, Chief; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8396-1936>; Scopus Author ID: 57208311867; eLibrary SPIN: 3900-3441; Author ID: 879052; Researcher ID: AAO-9491-2020; e-mail: evgeniy.md@mail.ru

Alexander V. Cherniak, M.D., Ph.D. (Medicine), the Head of the Laboratory of Functional and Ultrasonic Research Methods; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2001-5504>; eLibrary SPIN: 9328-6440; Author ID: 687383; e-mail: achi2000@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

ОБ АВТОРАХ

Мария Михайловна Малащенко, канд. мед. наук,
зав. отделением физиотерапии;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1648-798X>;
e-mail: mar-malashenko@yandex.ru

Ирина Цалиховна Кулагина, канд. мед. наук,
зав. пульмонологическим отделением,
ассистент кафедры пульмонологии (с курсом аллергологии);
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5387-5244>;
e-mail: irina-kulagina@mail.ru

Сергей Александрович Чернов, докт. мед. наук,
профессор, заслуженный врач РФ, главный терапевт;
e-mail: chernov.s.a@mail.ru

Наталья Александровна Асеева, врач отделения исследова-
ний функции внешнего дыхания центра функционально-диа-
гностических исследований;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3882-8132>;
e-mail: aweesa@yandex.ru

AUTHORS' INFO

Maria M. Malashenko, M.D., Ph.D. (Medicine),
the Head of the Physiotherapy Department;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1648-798X>;
e-mail: mar-malashenko@yandex.ru

Irina Ts. Kulagina, M.D., Ph.D. (Medicine),
the Head of the Pulmonology Department, Assistant
of the Pulmonology (with a course in Allergology) Department;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5387-5244>;
e-mail: mar-malashenko@yandex.ru

Sergey A. Chernov, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor,
Honored Doctor of the Russian Federation, Chief Therapist;
e-mail: chernov.s.a@mail.ru

Natalia A. Aseeva, M.D., doctor of the External
Respiratory Function Research Department
of the Center for Functional Diagnostic Research;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3882-8132>;
e-mail: aweesa@yandex.ru

УДК 61/778.64/57.089.67

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar88645>

Обзорная статья

3D-печать и медицина

С.А. Пелешок, К.П. Головки

Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия

В современных условиях возможности применения в медицине 3D-печати расширяются и она занимает около 11 % мирового рынка аддитивного производства. В Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова и Военном инновационном технополисе «ЭРА» 3D-печать используется для обучения, предоперационного планирования, создания шин и лонгет, изготовления неинвазивных изделий функционального назначения, создания вспомогательных средств профилактики COVID-19.

С целью определения перспектив развития изучен зарубежный опыт применения 3D-печати в медицине за последние 5 лет.

Установлено, что для обучения создается реестр клинических данных по 3D-печати, печатаются 3D-модели для имитирования сопротивления тканей при операции. С помощью предоперационного планирования разделены сиамские близнецы, на 3D-моделях стоп из эластичной смолы врачи обучаются хирургическим операциям, кардиологические модели используются для прогнозирования риска осложнений при транскатетерной имплантации искусственного аортального клапана, а также репетиции операций с врожденными аномалиями сердца. Изготавливаются индивидуальные имплантаты для поясничного и шейного отделов позвоночника, замены поврежденного участка грудной клетки и ребра, фаланги пальца, эндопротезы тазобедренного и коленного суставов. В качестве вспомогательных изделий создаются индивидуальные хирургические инструменты для операций с малой травматичностью, ортопедические стельки, эластичные стенты для уретры и сетчатые стенты трахеи. Для 3D-печати предлагаются новые материалы из полиамида (PA11), полиэфирэфиркетона, сплавов титана, рассасывающегося полимера и биосовместимой смолы. Появилось новое программное обеспечение 3D-печати и усовершенствованы существующие. В стоматологии печатаются персонализированные брекет-системы и элайнеры. С помощью 3D-печати создаются индивидуальные многослойные политаблетки, умные таблетки, выпускающие лечебные вещества по команде со смартфона, детские жевательные таблетки. В исследовательских целях напечатаны следующие устройства: имитирующие сердечную ткань с датчиками для отслеживания воздействия лекарственных средств и токсинов; прогнозирующие индивидуальную реакцию материала биопсийной опухоли на лечение; диагностирующие некоторые инфекционные заболевания с использованием смартфона и кремниевого микрофлюидного чипа.

Применение 3D-печати в медицине индивидуализирует и повышает качество медицинской помощи.

Ключевые слова: имплантаты; материалы 3D-печати; образование; перспективы развития; предоперационное планирование; программное обеспечение; 3D-лаборатория; 3D-печать в медицине.

Как цитировать:

Пелешок С.А., Головки К.П. 3D-печать и медицина // Известия Российской Военно-медицинской академии. 2022. Т. 41. № 3. С. 325–333.
DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar88645>

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar88645>

Review Article

3D printing and medicine

Stepan A. Peleshok , Konstantin P. Golovko

Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

In modern conditions, the possibilities of using 3D printing in medicine are expanding, and it occupies about 11% of the global additive manufacturing market. At the Kirov Military Medical Academy and the ERA Military Innovation Technopolis, 3D printing is used for training, preoperative planning, the creation of splints, the manufacture of non-invasive functional products, and the creation of COVID-19 prevention aids.

In order to determine the prospects for development, foreign experience in the use of 3D printing in medicine has been studied over the past 5 years.

It is established that a register of clinical data on 3D printing is being created for training, 3D models are being printed to simulate tissue resistance during surgery. With the help of preoperative planning, Siamese twins are separated, doctors are trained in surgical operations on 3D models of elastic resin feet, cardiological models are used to predict the risk of complications during transcatheter implantation of an artificial aortic valve, as well as rehearsals of operations with congenital heart anomalies. Individual implants are manufactured for the lumbar and cervical spine, replacement of the damaged area of the chest and rib, finger phalanges, hip and knee replacements. As auxiliary products, individual surgical instruments for operations with low trauma, orthopedic insoles, elastic stents for the urethra and mesh stents of the trachea are created. New materials made of polyamide (PA11), polyesteresterketone, titanium alloys, absorbable polymer and biocompatible resin are offered for 3D printing. There are new 3D printing software and updates of existing ones. Personalized braces and aligners are printed in dentistry. With the help of 3D printing, individual multi-layered polytablets, smart tablets that release medicinal substances on command from a smartphone, children's chewing tablets are created. For research purposes, the following devices have been printed: simulating cardiac tissue with sensors to track the effects of drugs and toxins; predicting the individual response of the biopsy tumor material to treatment; diagnosing some infectious diseases using a smartphone and a silicon microfluidic chip.

The use of 3D printing in medicine individualizes and improves the quality of medical care.

Keywords: 3D printing in medicine; development prospects; education; implants; preoperative planning; software; 3D laboratory; 3D printing materials.

To cite this article:

Peleshok SA, Golovko KP. 3D printing and medicine. *Russian Military Medical Academy Reports*. 2022;41(3):325–333. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar88645>

Received: 17.11.2021

Accepted: 29.11.2021

Published: 30.09.2022

ВВЕДЕНИЕ

Аддитивные технологии (синонимы: трехмерная печать, 3D-печать) в последнее время все чаще находят применение в медицине [1].

Рынок производства 3D-принтеров сейчас динамично развивается и, как ожидается, вырастет с 9,9 млрд долл. в 2018 г. до 42,9 млрд долл. США к 2025 г. Прогнозируется, что объем продаж в 2019–2025 гг. будет расти в среднем на 20–21 %. Отмечается индивидуализация использования технологии. Только в стоматологии, по данным SmarTech, рост рынка в 2020 г. достиг 3 млрд долл. По данным отчета Wohlers Report 2018, медицина занимает 11,3 % мирового рынка аддитивного производства. Согласно исследованию компании Market Research Future (MRFR), совокупные темпы годового роста глобального рынка 3D-печати медицинских устройств в 2018–2023 гг. оцениваются в 18 %. В 2018 г., по данным Healthcare 3D Printing Market Analysis, общий мировой доход от применения медицинских изделий 3D-печати составил 660,4 млн долл.

3D-печать — процесс добавления различных материалов, посредством которых трехмерные физические структуры формируются послойно из компьютерных моделей. Технология создания физических 3D-моделей, а также макетов, изделий, имплантатов в медицине из данных поверхностного сканирования и/или анатомических изображений неинвазивных исследований (компьютерная томография (КТ), магнитно-резонансная томография (МРТ)) представляет собой многоэтапный процесс: получение изображения, создание цифровой модели, построение системы поддержек и разрезание модели на слои, трехмерная печать и постобработка в зависимости от способа 3D-печати. Данная технология позволяет печатать множеством материалов, варьирующих от титановых сплавов до коллагена [1].

Выбор направления, метода и материала 3D-печати зависит от того, что подлежит печати. Например, при 3D-печати костных каркасов среди основных направлений (экструзия, фотополимеризация и гранулирование) в первую очередь используются следующие методы: послойного наложения материала (FDM) — 34 %, стереолитография (SLA) — 23 %, реже используются селективное лазерное плавление — 15 % и селективное лазерное спекание (SLS) — 13 % [2].

Медицина стала одной из первых отраслей, которая оценила и начала использовать возможности 3D-печати. Нет ничего более индивидуального, чем тело человека. Поэтому актуальным является производство персонализированных макетов, моделей, имплантатов, инструментов, протезов.

Свидетельством актуальности использования 3D-печати в медицине также является Постановление Правительства Российской Федерации от 20 октября 2021 г. № 1779 о создании в г. Обнинске Калужской

области инновационного научно-технологического центра «Парк атомных и медицинских технологий», где одним из четырех основных направлений деятельности будут аддитивные технологии, новые материалы, лазерные технологии.

Активная деятельность по внедрению 3D-печати в военную медицину осуществляется с участием Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова (ВМедА) и Военного инновационного технополиса (ВИТ) «ЭРА».

В ВМедА с 2017 г. для обеспечения образовательного и клинического процессов работает лаборатория искусственных органов.

В рамках научно-исследовательского кластера в целях поиска, развития и внедрения передовых идей, разработок и технологий в интересах укрепления обороноспособности РФ по научному направлению «Биотехнические системы и технологии» в ВИТ «ЭРА» в 2018 г. создана испытательная лаборатория биомедицинских и аддитивных технологий для изучения технологий 3D-сканирования, цифровой обработки данных КТ, МРТ, моделирования и 3D-печати моделей органов, тканей и предметов медицинского назначения для использования в военной медицине.

Целью исследования является изучение новых направлений в технологии 3D-печати в мире за последние 5 лет для последующей их апробации и внедрения в медицину.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Лабораториями 3D-печати в ВМедА и ВИТ «ЭРА» освоены 5 направлений деятельности. Это обучение [3], предоперационное планирование [4], создание шин и лонгет [5], изготовление неинвазивных изделий функционального назначения, создание средств профилактики COVID-19 [6]. Материалы по этим направлениям изложены в реферируемых публикациях, доложены на конференциях, в т. ч. в рамках научно-деловой программы, а также выставочной деятельности международного военно-технического форума «АРМИЯ» в 2017, 2019–2021 гг. [7]. Изданы две методические рекомендации по 3D-печати.

В упрощенном виде технологию 3D-печати в медицине можно продемонстрировать на примере создания шин (лонгет) методом послойного наплавления пластиком, где основные этапы — это получение результатов исследования пациента с помощью КТ и/или поверхностного 3D-сканирования и перевод их в цифровую модель, затем моделирование, 3D-печать и постобработка [5].

Для широкого внедрения в практику 3D-печати проводится обучение и организуется взаимодействие с центральными военно-медицинскими организациями [8, 9]. Для этого задействуются возможности телемедицины, а также с ее помощью организовано получение заявки на печать [10].

Для развития 3D-печати изучены зарубежные разработки¹ и некоторые обзорные публикации за последние 5 лет.

Использование 3D-печати в мировой медицине идет по тем же направлениям и включает: обучение [11–15], предоперационное планирование [13, 15–19], изготовление имплантатов [11, 20–23] и изделий медицинского применения [18, 24–26], а также применение печати в стоматологии [19, 25], фармации [27–29] и с исследовательскими целями [30–37].

С образовательной целью специалисты из Радиологического общества Северной Америки (RSNA) и Американского колледжа радиологии приступили к созданию реестра клинических данных по 3D-печати для доступа к анализу и примерам применения 3D-печати в медицине.

Для имитирования сопротивления тканей при операции на позвоночнике на 3D-принтере напечатаны модели позвонков поясничного и шейного отделов из полилактида (PLA) и поливинилового спирта.

Ученые из Университета Южной Австралии создают из эластичной смолы 3D-модели стоп для обучения врачей хирургическим операциям. Это связано с тем, что в Австралии ежегодно лечат 10 тыс. язв и выполняют около 4,5 тыс. ампутаций.

В Национальном военно-медицинском центре Уолтера Рида (США) на 3D-принтере напечатаны нейроанатомические модели, дающие представление нейрохирургам о сложных структурах кровоснабжения (ncbi.nlm.nih.gov).

Осуществляется печать изделий медицинского назначения, в частности индивидуальных хирургических инструментов для операции с малой травматичностью. Так напечатан биполярный хирургический зажим Вольт для лапароскопических операций для зажима и коагуляции (прижигания) сосудов и тканей (bitegroup.nl).

Ученые из Тайваня на 3D-принтере напечатали ортопедические стельки. Они выполнили 3D-сканирование ступни, создали ее STL-файл, отредактировали его в программном обеспечении (ПО) Autodesk Meshmixer и напечатали на 3D-принтере Infinity X1 по технологии FDM из PLA. Настройку 3D-печати осуществляли в ПО Cura.

Благодаря 3D-печати в Великобритании удалось разделить с помощью предоперационного планирования сиамских близнецов. Была создана цифровая модель их мозга, черепа и прилегающих тканей, из мягкого пластика изготовлено несколько напечатанных на 3D-принтере моделей, и после их изучения успешно выполнено оперативное вмешательство.

В Гарвардском университете осуществили 3D-печать кардиологических моделей для прогнозирования риска осложнений при транскатетерной имплантации искусственного аортального клапана и подборе точного размера имплантата.

В США с помощью 3D-печати предоперационного пластикового макета создали отсутствующую трахею из части пищевода у 4-месячного ребенка.

3D Systems с OpHeart на основе MPT с помощью ПО D2P произвели на 3D-принтере ProJet 660 Pro из печатного материала VisiJet 3D-модели для подготовки и репетиции сложных операций у детей с врожденными аномалиями сердца.

DePuy Synthes печатает на 3D-принтере имплантаты CONDUIT Interbody Platform для поясничного и шейного отделов позвоночника, сопоставимые по эластичности с губчатой тканью человеческих костей.

Ученые из Швейцарской высшей технической школы Цюриха представили новое решение — они с экспериментальной целью напечатали на 3D-принтере эластичный стент, который в 40 раз меньше обычных и подходит для пересадки в уретру ребенка.

В Бирмингеме (Великобритания) пересажен напечатанный на 3D-принтере титановый протез для замены поврежденного участка грудной клетки (eos.info).

Специалисты по 3D-печати из Aurora Labs и Университета Западной Австралии создают из титана имплантаты для позвоночника различных форм.

3D-сетчатый стент трахеи из медицинского силикона в виде буквы «С» применили для лечения непроходимости дыхательных путей, вызванной раком горла либо травмой.

В Центре промышленных исследований Квебека используют 3D-печать для создания имплантатов челюсти.

Медицинская компания Conformis (США) представила две модели напечатанных на 3D-принтере индивидуальных имплантатов тазобедренного сустава.

В Болгарии осуществили пересадку напечатанного на 3D-принтере ребра: на основе цифрового изображения кости в 3dbgprint подготовили модель к 3D-печати и напечатали искусственное ребро на 3D-принтере 3DGence из полиамида с отверстиями диаметром 3 мм.

В Нидерландах разработан новый способ полной замены коленного сустава в амбулаторных условиях с помощью 3D-технологий.

По данным КТ с помощью 3D-печати воспроизводили височную кость и на основе ее размеров печатали имплантаты среднего уха для восстановления слуха (RSNA).

В США специалисты Alexander Orthopedic Associates и Additive Orthopedics пересадили пациенту напечатанный на 3D-принтере имплантат кости дистальной фаланги пальца.

В Индонезийском университете изучают возможность 3D-печати 2 фиксаторов из PLA (размер 2 × 5 см) для операций на позвоночнике, располагающихся между позвонками и изменяющих свою форму в зависимости от условий окружающей среды.

Исследователи из Университета Белфаста изучают возможности печати решетки из PLA (ячейка 1 мм) с добавлением 2 % лигнина для лечения ран.

¹ <http://zdrav.expert/index.php>; <https://www.3dpulse.ru/news/>; <https://biomolecula.ru/articles/> и др.

С помощью 3D-печати создаются изделия для исследовательских целей. Роботизированная рука, частично выполняющая функции сурдопереводчика, напечатана в Антверпенском университете (Бельгия). С помощью автоматизированной системы эта рука переводит текст на язык жестов.

Исследователи Гарвардского университета напечатали на 3D-принтере сердце на чипе из полупрозрачного синтетического материала, имитирующего структуру и функции сердечной ткани. В устройстве располагаются микроскопические датчики, способные отслеживать сокращение при воздействии на чип различных лекарственных средств и токсинов, выделяемых различными болезнетворными микроорганизмами. Напечатанное сердце не является имплантатом для человека, а предназначено лишь для проведения научных исследований.

Исследователи из Массачусетского технологического института напечатали на 3D-принтере устройство, которое прогнозирует индивидуальную реакцию материала биопсийной опухоли на лечение.

В США разработан комплекс диагностики инфекционных заболеваний. В качестве детектора используются обычный мобильный телефон и диагностический кремниевый микрофлюидный чип размером с кредитную карточку, созданный с помощью 3D-печати.

Испанская компания Xkelet выпустила на рынок заменитель гипса для печати шин при неосложненных переломах, которые печатаются на 3D-принтере. Заменитель гипса водонепроницаем, не вызывает зуда, легко снимается и может быть использован повторно.

В области стоматологии компания Light Force Orthodontics (США) на основе облачной программы CAD разработала полностью персонализированные напечатанные на 3D-принтере брекет-системы.

Voodoo Manufacturing изготавливает в течение 5 дней стоматологические элайнеры с помощью 3D-печати для коррекции положения зубов. Другие организации печатают их 3 нед.

Осваивается 3D-печать новых лекарственных форм в фармации. Группа ученых из Университетского колледжа Лондона и другие использовали SLA для 3D-печати многослойных (2 и более) политаблеток в форме цилиндра, кольца и кольца с растворимым наполнителем, характеризующихся индивидуальным подходом и точностью дозирования (mdpi.com).

Ученые доказали целесообразность 3D-печати умных таблеток, передающих данные на смартфон и выпускающих лечебные вещества по команде. В эксперименте устройство способно находиться в желудке в течение месяца.

Британская компания FabRx разработала персонализированные жевательные таблетки для детей с редким нарушением обмена веществ — лейцинозом. Они содержат аминокислотные добавки из изолейцина и валина в соответствии с возрастом, весом и концентрацией

изолейцина в крови. Курс на месяц (28 «принтлетов») печатают 8 мин.

Напечатанные на 3D-принтере таблетки от эпилепсии Spritam (Aprecia Pharmaceuticals) одобрены FDA. Контролируя персонализированное высвобождение лекарств из смеси активных компонентов или многослойных таблеток, можно улучшить их безопасность и эффективность.

Осваивается печать новыми материалами. Shapeways предлагает биоразлагаемый материал PA11 на основе нейлона и касторового масла для создания шин, ортезов и протезов методом SLS на оборудовании EOS.

Выполнена печать костных пористых имплантатов из полиэфирэфиркетона (ПЭЭК) по методу производства способом наплавления нитей (FFF) (FDM). Показано, что SLS менее экономично, чем FFF (FossilLabs).

Evonik представила новый материал VESTAKEEP 3DF на основе ПЭЭК 90 i4G для 3D-печати имплантатов по технологии FFF. Данный материал характеризуется биосовместимостью, биостабильностью и рентгенопрозрачностью.

BellaSeno и Evonik предлагают напечатанные на 3D-принтере имплантаты груди из рассасывающегося полимера RESOMER. Так, например, имплантат Senella постепенно рассасывается в организме и замещается собственными тканями, а имплантаты из силикона заменяются каждые 10–15 лет.

Созданы новые виды биосовместимой смолы Raydent Surgical Guide Resin и Raydent Crown&Bridge Resin для 3D-печати хирургических моделей, коронок и мостов. Сертификат разрешает их применение в организме человека в течение 30 дней (Zortrax).

Ученые из Мельбурнского технологического университета усилили высокочастотными звуковыми волнами на 12 % внутреннюю микроструктуру напечатанных на 3D-принтере сплавов Ti-6Al-4V, используемых для печати имплантатов.

Появились новые программы и обновления существующих. Бесплатная программа Hologos для просмотра рентгеновских снимков, а также изображений, полученных в результате МРТ и КТ, имеет открытый исходный код. Функционирует в части 3D-рендеринга, имеет инструмент визуализации поверхностей. Файлы экспортируют в формат STL для вывода на 3D-печать. Недостаток данного ПО — отсутствие возможности сегментации изображения.

Постоянно обновляется имеющее открытый исходный код ПО Blender.

ПО SketchUp позволяет моделировать различные трехмерные объекты и обладает достаточно широкими возможностями.

Aether выпустил для медицинской визуализации на основе искусственного интеллекта ПО Automatic Segmentation and Reconstruction, осуществляющее автоматизированную сегментацию.

Компания 3D Systems получила для ПО D2P (DICOM-to-PRINT) дополнительное разрешение по форме 510(k) от FDA для использования в кардиологии, нейрохирургии,

челюстно-лицевой хирургии (ЧЛХ), гастроэнтерологии, урологии, неврологии и травматологии.

Британская компания Axial3D создает платформу Axial3D Assure, которая позволяет управлять лабораториями медицинской 3D-печати.

FDA (США) утвердила рекомендации для 3D-печати в медицине. В руководстве, изданном 4 декабря 2017 г., рассмотрены аспекты проектирования и испытания моделей, а также требования к их качеству. Оно содержит разделы по дизайну и процессу производства, испытанию моделей и составлению инструкций.

При создании моделей на основе изображений, например, полученных при КТ-сканировании, должны учитываться минимальное качество изображения и его разрешение, алгоритмы обработки изображений, которые могут изменять размеры модели по сравнению с реальными органами, а также сохранность и определимость анатомических ориентиров, используемых для адаптации модели.

В разделе по испытанию моделей приводятся требования к их описанию, результатам механических испытаний, измерению размеров, характеристикам материала, стерилизации и биосовместимости.

Согласно третьему разделу, каждое устройство должно иметь инструкцию, в которой указаны данные пациента, назначение модели и его окончательный дизайн, а также предупреждение о необходимости предварительного обследования пациента для исключения любых изменений, могущих отличать модель от реальной анатомической структуры.

Оценена экономическая целесообразность содержания медицинской лаборатории 3D-печати в больнице в Манчестере при затратах на программное обеспечение и 3D-принтер PolyJet. В штате лаборатории 3 специалиста, которые работают с 9 консультантами по ЧЛХ при лечении и реабилитации пациентов после рака головы и шеи, лицевой травмы или врожденных аномалий. В среднем больница сталкивается с 20 случаями рака и 8–10 травмами ежегодно.

Перспективы развития 3D-печати в лабораториях ВИТ «ЭРА» и ВМедА связаны с планируемой печатью имплантатов из порошка титана и его сплавов и биосовместимого ПЭЭК, созданием предоперационных моделей с помощью многоцветной печати, освоением сканирования и моделирования в стоматологии, экспериментальной 3D-биопечатью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С участием ВМедА и ВИТ «ЭРА» проведены апробация и внедрение в центральные военно-медицинские организации МО РФ персонализированных медицинских изделий, изготовленных с помощью 3D-печати (макеты предоперационных (патологических) органов, шин и лангет, анатомических моделей сложных костей и элементов скелета человека), для использования в предоперационном планировании, обучении, повышении квалификации врачей, реабилитации, что в конечном итоге должно улучшить качество жизни больных после травм и других патологических состояний.

Применение 3D-печати в медицине стремительно расширяется, что похоже на революцию в здравоохранении, и в частности:

- повышает качество образования и постдипломной подготовки врачей;
- улучшает визуализацию с помощью физических моделей органов, подготовку, планирование и клинический исход сложных операций;
- дает возможность персонализированного создания имплантатов;
- индивидуализирует лекарства и медицинские изделия;
- повышает эффективность и производительность труда медицинских работников;
- делает высокотехнологическую медицинскую помощь более доступной.

Медицина становится одной из отраслей, в которой применение технологий 3D-печати получает наибольшее распространение.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Финансирование данной работы не проводилось.

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

Этическая экспертиза. Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Карякин Н.Н., Горбатов Р.О. 3D-печать в медицине. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. 240 с.
2. Bahraminasab M. Challenges on optimization of 3D-printed bone scaffolds // Biomed. Eng. Online. 2020. Vol. 19, No. 69. P. 1–33. DOI: 10.1186/s12938-020-00810-2
3. Кушнарев С.В., Ширшин А.В. Создание трехмерных физических моделей на основе изображений компьютерной томографии (первый опыт) // Известия Российской Военно-медицинской академии. 2018. Т. 37, № 4. С. 53–56.

4. Пелешок А.С., Пелешок С.А. Острый аортальный синдром: новые технологии диагностики, планирования лечения, усовершенствования врачей // *Известия Российской Военно-медицинской академии*. 2020. Т. 39, № S3–5. С. 121–126.
5. Хоминец В.В., Пелешок С.А., Волов Д.А., и др. Технологии 3D-печати в лечении пациентов с травмами и заболеваниями предплечья и кисти // *Вестник Российской Военно-медицинской академии*. 2020. № 1(69). С. 113–118.
6. Железняк И.С., Пелешок С.А., Ширшин А.В., и др. Использование технологии 3D-печати для профилактики новой коронавирусной инфекции COVID-19. В сб.: *Состояние и перспективы развития науки по направлению «Биотехнические системы и технологии»*. Сборник статей 2-й Всероссийской научно-технической конференции. Т. 1. Анапа, 2020. С. 7–14.
7. Лобанова М.И., Овчинников Д.В., Железняк И.С., и др. 3D-печать в медицине // *Известия Российской Военно-медицинской академии*. 2019. Т. 38, № 4. С. 201–206.
8. Хоминец В.В., Кудяшев А.Л. Опыт проведения первого выездного цикла «Принципы лечения переломов костей в военно-медицинских организациях МО РФ» на базе Военного инновационного технополиса ЭРА // *Военно-медицинский журнал*. 2019. Т. 340, № 8. С. 93–94.
9. Есипов А.В., Алехнович А.В., Фокин Ю.Н. Рабочее совещание по аддитивным технологиям в 3-м Центральном военном клиническом госпитале имени А.А. Вишневого // *Военно-медицинский журнал*. 2019. Т. 340, № 12. С. 84–85.
10. Пелешок С.А., Железняк И.С., Овчинников Д.В., и др. Опыт применения аддитивных технологий в военно-медицинских организациях и Военном инновационном технополисе «ЭРА» // *Вестник Российской Военно-медицинской академии*. 2019. № 3(67). С. 126–132.
11. Martelli N., Serrano C., Pineau J., et al. Advantages and disadvantages of 3-dimensional printing in surgery // *A systematic review Surgery*. 2016. Vol. 159, No. 6. P. 1485–1500. DOI: 10.1016/j.surg.2015.12.017
12. Pucci J.U., Christophe B.R., Sisti J.A., Connolly E.C. Three-dimensional printing: technologies, applications, and limitations in neurosurgery // *Biotechnology Advances*. 2017. Vol. 35, No. 5. P. 521–529. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2017.05.007
13. Tack P., Victor J., Gemmel P., Annemans L. 3D-printing techniques in a medical setting: a systematic literature review // *Biomed. Eng. Online*. 2016. Vol. 15, No. 1. P. 115. DOI: 10.1186/s12938-016-0236-4
14. Li C., Cheung T.F., Fan V.C., et al. Applications of Three-Dimensional Printing in Surgery // *Surg. Innov.* 2017. Vol. 24, No. 1. P. 82–88. DOI: 10.1177/1553350616681889
15. Crafts T.D., Ellsperman S.E., Wannemuehler T.J., et al. Three-Dimensional Printing and Its Applications in Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery // *Otolaryngol. Head Neck Surg.* 2017. 156, No. 6. P. 999–1010. DOI: 10.1177/0194599816678372
16. Ganguli A., Pagan-Diaz G.J., Grant L., et al. 3D printing for pre-operative planning and surgical training: a review // *Biomed. Microdevices*. 2018. Vol. 20, No. 3. P. 65. DOI: 10.1007/s10544-018-0301-9
17. Lazar H.L. Three-dimensional printing in cardiac surgery // *Enhanced imagery results in enhanced outcomes* // *J. Card. Surg.* 2018. Vol. 33, No. 1. P. 28.
18. Kaye R., Goldstein T., Zeltsman D., et al. Three dimensional printing: A review on the utility within medicine and otolaryngology // *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 2016. Vol. 89. P. 145–148. DOI: 10.1016/j.ijporl.2016.08.007
19. Louvrier A., Marty P., Barrabé A., et al. How useful is 3D printing in maxillofacial surgery? // *J. Stomatol. Oral Maxillofac. Surg.* 2017. Vol. 118, No. 4. P. 206–212. DOI: 10.1016/j.jormas.2017.07.002
20. Wilcox B., Mobbs R.J., Wu A.M., Phan K. Systematic review of 3D printing in spinal surgery: the current state of play // *J. Spine Surg.* 2017. Vol. 3, No. 3. P. 433–443.
21. Papagelopoulos P., Savidou O., Koutsouradis P., et al. Three-dimensional Technologies in Orthopedics. // *Orthopedics*. 2018. Vol. 41. P. 12–20. DOI: 10.3928/01477447-20180109-04
22. Javid M., Haleem A. Additive manufacturing applications in orthopaedics: A review // *J. Clin. Orthop. Trauma*. 2018. Vol. 9, No. 3. P. 202–206. DOI: 10.1016/j.jcot.2018.04.008
23. Vaishya R., Vijay V., Vaish A., Agarwal A.K. Threedimensional printing for complex orthopedic cases and trauma: A blessing // *Apollo. Med.* 2018. Vol. 15. P. 51–54.
24. Diment L.E., Thompson M.S., Bergmann J.H.M. Clinical efficacy and effectiveness of 3D printing: a systematic review // *B. M. J. Open*. 2017. Vol. 7, No. 12. Art. e016891. DOI: 10.1136/bmjopen-2017-016891
25. Jacobs C.A., Lin A.Y. A New Classification of Three-Dimensional Printing Technologies: Systematic Review of Three-Dimensional Printing for Patient-Specific Craniomaxillofacial Surgery // *Plast. Reconstr. Surg.* 2017. Vol. 139, No. 5. P. 1211–1220. DOI: 10.1097/PRS.0000000000003232
26. Lal H., Patralekh M.K. 3D printing and its applications in orthopaedic trauma: A technological marvel // *J. Clin. Orthop. Trauma*. 2018. Vol. 9, No. 3. P. 260–268. DOI: 10.1016/j.jcot.2018.07.022
27. Jamróz W., Szafraniec J., Kurek M., Jachowicz R. 3D Printing in Pharmaceutical and Medical Applications — Recent Achievements and Challenges // *Pharm. Res.* 2018. Vol. 35, No. 9. P. 176. DOI: 10.1007/s11095-018-2454-x
28. Goyanes A., Scarpa M., Kamlow M., et al. Patient acceptability of 3D printed medicines // *Int. J. Pharm.* 2017. Vol. 530, No. 1–2. P. 71–78. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2017.07.064
29. Konta A.A., García-Piña M., Serrano D.R. Personalised 3D Printed Medicines: Which Techniques and Polymers Are More Successful? // *Bioengineering (Basel)*. 2017. Vol. 4, No. 4. P. 79. DOI: 10.3390/bioengineering4040079
30. Tack P., Victor J., Gemmel P., Annemans L. 3D-printing techniques in a medical setting: a systematic literature review // *Biomed. Eng. Online*. 2016. Vol. 15, No. 1. P. 115. DOI: 10.1186/s12938-016-0236-4
31. Kim S.J., Cha Y.H., Lee K.H., Kwon J.-Y. Effect of personalized wrist orthosis for wrist pain with three-dimensional scanning and printing technique: A preliminary, randomized, controlled, open-label study // *Prosthetics and Orthotics International*. 2018. Vol. 42, No. 6. P. 636–643. DOI: 10.1177/0309364618785725
32. Ballard D.H., Trace A.P., Ali S., et al. Clinical Applications of 3D Printing: Primer for Radiologist // *Acad. Radiologist*. 2018. Vol. 25, No. 1. P. 52–65. DOI: 10.1016/j.acra.2017.08.004
33. Li N., Huang S., Zhang G., et al. Progress in additive manufacturing on new materials: a review // *J. Mater. Sci. Technol.* 2019. Vol. 35, No. 2. P. 242–269. DOI: 10.1016/j.jmst.2018.09.002
34. Liu Y., Rath B., Tingart M., Eschweiler J. Role of implants surface modification in osseointegration: A systematic review // *J. Biomed. Mater. Res.* 2020. Vol. 108, No. 3. P. 470–484. DOI: 10.1002/jbm.a.36829
35. Murr L.E. Strategies for crating living, additively manufactured, open-cellular metal and alloy implants by promoting os-

seointegration, osteoinduction and vascularization: and overview // *J. Mater. Sci. Technol.* 2019. Vol. 35, No. 2. P. 231–241. DOI: 10.1016/j.jmst.2018.09.003

36. Ahangar P., Cooke M.E., Weber M., Rosenzweig D. Current Biomedical Applications of 3D Printing and Addi-

tive Manufacturing // *Appl. Sci.* 2019. Vol. 9, No. 8. Art. 1713. DOI: 10.3390/app9081713

37. Gong G., Ye J., Chi Y., et al. Research status of laser additive manufacturing for metal: a review // *Journal of Materials Research and Technology.* 2021. Vol. 15. P. 855–884.

REFERENCES

1. Karyakin NN, GorbatoV RO. *3D print in medicine*. Moscow: GEOTAR-Media Publisher; 2019. 240 p. (In Russ.)
2. Bahraminasab M. Challenges on optimization of 3D-printed bone scaffolds. *Biomed Eng Online.* 2020;19(69):1–33. DOI: 10.1186/s12938-020-00810-2
3. Kushnarev SV, Shirshin AV. Creating three-dimensional physical models based on images of computer tomography (first experience). *Russian Military Medical Academy Report.* 2018;37(4):53–56. (In Russ.)
4. Peleshok AS, Peleshok SA. Acute aortic syndrome: new technologies for diagnostics, treatment planning, and medical improvement. *Russian Military Medical Academy Report.* 2020;39(S3–5):121–126. (In Russ.)
5. Khominets VV, Peleshok SA, Volov DA, et al. 3D printing technology in the treatment of patients with injuries and diseases of the forearm and brush. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy.* 2020;1((69)):113–118. (In Russ.)
6. Zheleznyak IS, Peleshok SA, Shirshin AV, et al. Using 3D printing technology for the prevention of a new coronavirus infection COVID-19. In: *Sostoyaniye i perspektivy razvitiya nauki po napravleniyu "Biotehnicheskkiye sistemy i tekhnologii"*. Collection of articles of the 2nd All-Russian Scientific and Technical Conference. Vol. 1. Anapa; 2020. P. 7–14. (In Russ.)
7. Lobanova MI, Ovchinnikov DV, Zheleznyak IS, et al. 3D-printing in medicine. *Russian Military Medical Academy Report.* 2019;38(4): 201–206. (In Russ.)
8. Khominets VV, Kudyashev AL. The experience of the first outbound cycle "The principles of treatment of bone fractures in military medical organizations of the Ministry of Defense of the Russian Federation" on the basis of military innovation technopolis ERA. *Military Medical Journal.* 2019; 340(8):93–94. (In Russ.)
9. Yesipov AV, Alekhovich AV, Fokin YuN. Workshop on additive technologies in the 3rd Central Military Clinical Hospital named after A.A. Vishnevsky. *Military Medical Journal.* 2019;340(12):84–85. (In Russ.)
10. Peleshok SA, Zheleznyak IS, Ovchinnikov DV, et al. Experience of applying additive technologies in military medical organizations and military innovation technopolis "ERA". *Bulletin of the Russian Military Medical Academy.* 2019;3(67):126–132. (In Russ.)
11. Martelli N, Serrano C, Pineau J, et al. Advantages and disadvantages of 3-dimensional printing in surgery: A systematic review. *Surgery.* 2016;159(6):1485–1500. DOI: 10.1016/j.surg.2015.12.017
12. Pucci JU, Christophe BR, Sisti JA, Connolly E.C. Three-dimensional printing: technologies, applications, and limitations in neurosurgery. *Biotechnology Advances.* 2017;35(5):521–529. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2017.05.007
13. Tack P, Victor J, Gemmel P, Annemans L. 3D-printing techniques in a medical setting: a systematic literature review. *Biomed Eng Online.* 2016;15(1):115. DOI: 10.1186/s12938-016-0236-4
14. Li C, Cheung TF, Fan VC, et al. Applications of Three-Dimensional Printing in Surgery. *Surg Innov.* 2017;24(1):82–88. DOI: 10.1177/1553350616681889
15. Crafts TD, Ellsperman SE, Wannemuehler TJ, et al. Three-Dimensional Printing and Its Applications in Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2017;156(6):999–1010. DOI: 10.1177/0194599816678372
16. Ganguli A, Pagan-Diaz GJ, Grant L, et al. 3D printing for preoperative planning and surgical training: a review. *Biomed Microdevices.* 2018;20(3):65. DOI: 10.1007/s10544-018-0301-9
17. Lazar HL. Three-dimensional printing in cardiac surgery: Enhanced imagery results in enhanced outcomes. *J Card Surg.* 2018;33(1):28.
18. Kaye R, Goldstein T, Zeltsman D, et al. Three dimensional printing: A review on the utility within medicine and otolaryngology. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2016;89:145–148. DOI: 10.1016/j.ijporl.2016.08.007
19. Louvrier A, Marty P, Barrabé A, et al. How useful is 3D printing in maxillofacial surgery? *J Stomatol Oral Maxillofac Surg.* 2017;118(4):206–212. DOI: 10.1016/j.jormas.2017.07.002
20. Wilcox B, Mobbs RJ, Wu AM, Phan K. Systematic review of 3D printing in spinal surgery: the current state of play. *J Spine Surg.* 2017;3(3):433–443.
21. Papagelopoulos P, Savvidou O, Koutsouradis P, et al. Three-dimensional Technologies in Orthopedics. *Orthopedics.* 2018;41:12–20. DOI: 10.3928/01477447-20180109-04
22. Javaid M, Haleem A. Additive manufacturing applications in orthopaedics: A review. *J Clin Orthop Trauma.* 2018;9(3):202–206. DOI:10.1016/j.jcot.2018.04.008
23. Vaishya R, Vijay V, Vaish A, Agarwal AK. Threedimensional printing for complex orthopedic cases and trauma: A blessing. *Apollo Med.* 2018;15:51–54.
24. Diment LE, Thompson MS, Bergmann JHM. Clinical efficacy and effectiveness of 3D printing: a systematic review. *BMJ Open.* 2017;7(12): e016891. DOI: 10.1136/bmjopen-2017-01689
25. Jacobs CA, Lin AY. A New Classification of Three-Dimensional Printing Technologies: Systematic Review of Three-Dimensional Printing for Patient-Specific Craniomaxillofacial Surgery. *Plast Reconstr Surg.* 2017;139(5):1211–1220. DOI: 10.1097/PRS.0000000000003232
26. Lal H, Patralekh MK. 3D printing and its applications in orthopaedic trauma: A technological marvel. *J Clin Orthop Trauma.* 2018;9(3):260–268. DOI:10.1016/j.jcot.2018.07.022
27. Jamróz W, Szafraniec J, Kurek M, Jachowicz R. 3D Printing in Pharmaceutical and Medical Applications — Recent Achievements and Challenges. *Pharm Res.* 2018;35(9):176. DOI: 10.1007/s11095-018-2454-x
28. Goyanes A, Scarpa M, Kamlow M, et al. Patient acceptability of 3D printed medicines. *Int J Pharm.* 2017;530(1–2):71–78. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2017.07.064
29. Konta AA, García-Piña M, Serrano DR. Personalised 3D Printed Medicines: Which Techniques and Polymers Are More Successful? *Bio-engineering (Basel).* 2017;4(4):79. DOI: 10.3390/bioengineering4040079

30. Tack P, Victor J, Gemmel P, Annemans L. 3D-printing techniques in a medical setting: a systematic literature review. *Biomed Eng Online*. 2016;15(1):115. DOI: 10.1186/s12938-016-0236-4
31. Kim SJ, Cha YH, Lee KH, Kwon J-Y. Effect of personalized wrist orthosis for wrist pain with three-dimensional scanning and printing technique: A preliminary, randomized, controlled, open-label study. *Prosthetics and Orthotics International*, 2018;42(6):363-643. DOI: 10.1177/0309364618785725
32. Ballard DH, Trace AP, Ali S, et al. Clinical Applications of 3D Printing: Primer for Radiologist. *Acad Radiologist*. 2018;25(1):52–65. DOI: 10.1016/j.acra.2017.08.004
33. Li N, Huang S, Zhang G, et al. Progress in additive manufacturing on new materials: a review. *J Mater Sci Technol*. 2019;35(2):242–269. DOI: 10.1016/j.jmst.2018.09.002
34. Liu Y, Rath B, Tingart M, Eschweiler J. Role of implants surface modification in osseointegration: A systematic review. *J Biomed Mater Res*. 2020;108(3):470–484. DOI: 10.1002/jbm.a.36829
35. Murr LE. Strategies for creating living, additively manufactured, open-cellular metal and alloy implants by promoting osseointegration, osteoinduction and vascularization: and overview. *J Mater Sci Technol*. 2019;35(2):231–241. DOI: 10.1016/j.jmst.2018.09.003
36. Ahangar P, Cooke ME, Weber M, Rosenzweig D. Current Biomedical Applications of 3D Printing and Additive Manufacturing. *Appl Sci*. 2019;9(8):1713. DOI: 10.3390/app9081713
37. Gong G, Ye J, Chi Y, et al. Research status of laser additive manufacturing for metal: a review. *Journal of Materials Research and Technology*. 2021;15:855–884.

ОБ АВТОРАХ

***Степан Андреевич Пелешок**, докт. мед. наук, профессор, вед. научный сотрудник научно-исследовательского центра; адрес: Россия, 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9460-8126>; eLibrary SPIN: 3657-9756; Author ID: 878788; Researcher ID: L-3028-2016; e-mail: peleshokvma@mail.ru

Константин Петрович Головкин, докт. мед. наук, начальник научно-исследовательского центра; ORCID: 0000-0002-1584-1748; eLibrary SPIN: 2299-6153; Author ID: 299461; Researcher ID: C-6865-2017; e-mail: labws@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

AUTHORS' INFO

***Stepan A. Peleshok**, M.D., D.Sc. (Medicine), Prof., Leading researcher, Science Research Center; address: 6, Akademika Lebedeva str., Saint Petersburg, 194044, Russia; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9460-8126>; eLibrary SPIN: 3657-9756; Author ID: 878788; Researcher ID: L-3028-2016; e-mail: peleshokvma@mail.ru

Konstantin P. Golovko, M.D., D.Sc. (Medicine), Head of the Science Research Center; ORCID: 0000-0002-1584-1748; eLibrary SPIN: 2299-6153; Author ID: 299461; Researcher ID: C-6865-2017; e-mail: labws@mail.ru

УДК 539.1.047:576.5:616-001

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar89691>

Обзорная статья

Перспективы применения клеточной терапии для лечения костномозговой формы острой лучевой болезни

В.И. Легеза, Н.В. Аксенова, Е.В. Мурзина, Н.В. Пак, О.М. Веселова

Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия

Терапия костномозговой формы острой лучевой болезни на основе стволовых клеток в настоящее время находится на острие научного интереса и ожидаемых перспектив в связи с их высоким регенеративным потенциалом, антивоспалительным и противофибротическим действием, способностью стимулировать пролиферацию и дифференцировку гемопоэтических клеток. Показано, что после инфузии под действием хемотаксических факторов стволовые клетки могут мигрировать в очаги повреждения, сохраняя при этом свои функции, где способны дифференцироваться в клетки пораженных тканей и способствовать их восстановлению.

В работе выполнен анализ современных данных о новых разработках и опыте применения клеточных продуктов с потенциалом репаративной регенерации, полученных из различных источников, для лечения острой лучевой болезни. Процессы пролиферации и дифференцировки клеток в системе крови регулируются механизмами обратной связи в соответствии с сигналами, поступающими из более дифференцированных пулов, а также сигналами из других органов и тканей, приходящими по нервным и гуморальным путям. Важную роль в этих процессах играет кроветворное микроокружение, создаваемое фибробластами, макрофагами, эндотелиоцитами, лимфоцитами и другими клетками. Влияние этого микроокружения может осуществляться как путем непосредственных контактов между клетками, так и через выработку регуляторов — цитокинов.

Данные литературы показывают, что в настоящее время клеточные технологии наряду с применением цитокинов являются одним из наиболее перспективных направлений лечения острой лучевой болезни. Важным преимуществом клеточной терапии острой лучевой болезни является то обстоятельство, что, в отличие от лечения цитокинами и факторами роста, она не требует наличия определенного (базового) уровня стволовых и прогениторных клеток, являющихся главной мишенью для проявления эффекта цитокинов.

Представленные данные свидетельствуют о несомненной перспективности клеточной терапии для лечения поражений костного мозга, вызванных воздействием высоких доз ионизирующих излучений.

Ключевые слова: гемопоэтический синдром; клеточная терапия; костный мозг; мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки; острая лучевая болезнь; радиационные поражения; трансплантация.

Как цитировать:

Легеза В.И., Аксенова Н.В., Мурзина Е.В., Пак Н.В., Веселова О.М. Перспективы применения клеточной терапии для лечения костномозговой формы острой лучевой болезни // Известия Российской Военно-медицинской академии. 2022. Т. 41. № 3. С. 335–344.
DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar89691>

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar89691>

Review Article

Prospects of cell therapy for hematopoietic syndrome of acute radiation sickness

Vladimir I. Legeza, Natalia V. Aksenova, Elena V. Murzina, Natalya V. Pak, Olga M. Veselova

Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

Cellular therapy of hematopoietic acute radiation syndrome is currently at the forefront of scientific interest due to the high regenerative potential of stem cells, their anti-inflammatory and antifibrotic effects. Stem cells have a high ability to stimulate the proliferation and differentiation of hematopoietic cells. It has been shown that after administration stem cells are able to migrate to lesions under the influence of chemotactic factors. At the same time, they retain their functions and can differentiate into cells of affected tissues and contribute to their recovery.

The article analyzes the current trends in the use of cellular products for the treatment of hematopoietic acute radiation syndrome. The processes of cell proliferation and differentiation in the blood system are regulated by feedback mechanisms. This occurs in accordance with signals coming from more differentiated pools, as well as signals from other organs and tissues. They come along the nervous and humoral pathways. The hematopoietic microenvironment created by fibroblasts, macrophages, endotheliocytes, lymphocytes and other cells is play an important role in these processes. The influence of this microenvironment can be carried out both through direct contacts between cells and through the production of regulators (cytokines).

At present cellular technologies are one of the most promising areas for the treatment of acute radiation syndrome along with the use of cytokines. Cell therapy of hematopoietic acute radiation syndrome has advantages over the use of cytokines and growth factors. It does not require a basic level of stem and progenitor cells, which are the main target for the cytokine effect.

The presented data testify that cell therapy has been a promising approach in treatment of radiation injury of bone marrow caused by high doses of radiation exposure.

Keywords: acute radiation sickness; bone marrow; cell therapy; hematopoietic syndrome; multipotent mesenchymal stem cells; radiation injury; transplantation.

To cite this article:

Legeza VI, Aksenova NV, Murzina EV, Pak NV, Veselova OM. Prospects of cell therapy for hematopoietic syndrome of acute radiation sickness. *Russian Military Medical Academy Reports*. 2022;41(3):335–344. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar89691>

Received: 04.12.2021

Accepted: 29.01.2022

Published: 30.09.2022

АКТУАЛЬНОСТЬ

История клеточной терапии радиационных поражений насчитывает более 70 лет [1]. Еще в 50-х гг. прошлого века в многочисленных экспериментальных исследованиях было показано, что, если в организм животных, облученных в смертельных дозах, ввести жизнеспособные костномозговые клетки донора, трансплантат приживается — костный мозг заселяют введенные кроветворные клетки, за счет которых восстанавливается гемопоэз и в ряде случаев удается предотвратить смертельный исход [2]. Общеизвестным методом противорадиационной клеточной терапии является трансплантация костного мозга. Описано 58 случаев ее применения при острой лучевой болезни (ОЛБ), половина из которых закончилась неудачно — у пациентов развилась болезнь «трансплантат против хозяина» (РТПХ) с последующей полиорганной недостаточностью, закончившейся летальным исходом [3]. В настоящее время показания к аллотрансплантации костномозговых клеток при лучевых поражениях существенно ограничены, что побуждает к поиску новых эффективных и безопасных направлений клеточной терапии этой патологии, наиболее перспективным из которых является использование гетерологичных мезенхимальных стволовых клеток (МСК) [4–6].

Терапия на основе МСК на сегодняшний день находится на острие научного интереса и ожидаемых перспектив [7] в связи с их высоким регенеративным потенциалом, противовоспалительным и противофибротическим действием, способностью стимулировать пролиферацию и дифференцировку гемопоэтических клеток [8]. Показано, что после инфузии под действием хемотаксических факторов МСК способны мигрировать в очаги повреждения (сердце, нервная система, кожа, кости, жир, хрящи, мышцы и кишечник), сохраняя при этом свои функции [9, 10], где могут дифференцироваться в клетки пораженных тканей и способствовать их восстановлению [11, 12]. Данные последних лет свидетельствуют об эффективности МСК для лечения инфекционных заболеваний, что может быть полезно для снижения риска развития тяжелых инфекционных осложнений, вызванных лучевым поражением желудочно-кишечного тракта в сочетании с иммуносупрессией [13].

В настоящее время единственным биомедицинским клеточным продуктом, предназначенным для снижения токсических эффектов радиационного поражения, является препарат PLX-R18, представляющий собой плацентарные МСК. Препарат разработан в США и исследуется в статусе IND (Investigational New Drug — новое перспективное лекарственное средство) Федеральным агентством по надзору за пищевыми продуктами и лекарственными средствами [14, 15].

Цель работы — провести информационно-аналитическое исследование современных данных о новых разработках и опыте применения клеточных продуктов с потенциалом репаративной регенерации, полученных из различных источников, для лечения ОЛБ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Основной системой клеточного обновления системы крови у человека и животных является костный мозг. В его составе помимо собственно кроветворных клеток выделяют стромальные элементы, которые создают необходимое микроокружение для их пролиферации, дифференцировки и созревания. Согласно унитарной модели, клетками, дающими начало всем росткам кроветворения, являются полипотентные гемопоэтические (кроветворные) стволовые клетки (ГСК), которые способны к делению неограниченное число раз. Следует отметить, что к стволовому пулу у человека относится порядка 0,3–0,7 % клеток костного мозга, при этом около 90 % находится в стадии покоя клеточного цикла (G0), что создает потенциал для восстановления поражений костного мозга в результате воздействия факторов различной природы, в частности ионизирующих излучений [16, 17].

Воздействие ионизирующего излучения дозозависимо влияет на кроветворение в костном мозге. Сразу после облучения часть клеток стволового пула утрачивает пролиферативную активность, при этом продолжительность блока митозов в клетках пролиферативно-созревающего пула тем дольше, чем выше доза облучения. Часть клеток погибает в интерфазе, другая часть — после восстановления деления в одном из ближайших митозов [18–20]. Клетки созревающего пула при облучении практически полностью сохраняют жизнеспособность, процесс их созревания и выхода в периферическую кровь продолжается, как и без облучения. В результате в костном мозге быстро убывает число клеток, вначале наименее дифференцированных, а затем все более зрелых, так как естественная их убыль не компенсируется поступлением новых клеток из истощенных пулов [21]. Наиболее радиочувствительными являются стволовые и коммитированные клетки — D_0 (среднелетальная клеточная доза, при которой выживают 37 % клеток) составляет 1,5–1,9 Гр; более устойчивы к действию радиации миелобласты ($D_0 = 3–3,5$ Гр). Достаточно радиорезистентными являются промиелоциты и миелоциты, D_0 для которых составляет 8,5 и 10 Гр соответственно.

Продолжительность жизни зрелых клеток функционального пула после радиационного воздействия меняется мало, поскольку клеточные элементы периферической крови (лейкоциты, тромбоциты, эритроциты) являются наиболее радиорезистентными: D_0 составляет более 15 Гр. Вследствие естественной убыли циркулирующих клеток крови при завершении клеточного цикла после облучения происходит быстрое изменение количественного состава клеток крови, выраженность которого определяется продолжительностью жизни клеточных элементов и отсутствием поступления в периферическую кровь новых зрелых клеток [21–23].

В результате при облучении в дозах порядка 4–6 Гр развивается агранулоцитоз, число тромбоцитов снижается

до критических значений [24]. Этот период лучевого поражения является наиболее тяжелым и часто фатальным для пациента из-за высокой вероятности развития инфекционных осложнений и геморрагического синдрома, если не принять экстренных мер для спасения больного. До последнего времени эти меры сводились к назначению антибиотиков, трансфузий тромбоцитов, эритроцитарной массы, переливанию плазмы и других средств детоксикации, т. е. средств поддерживающей терапии, позволяющих достичь этапа спонтанного восстановления кроветворения. В то же время очевидно, что заместить все или хотя бы большинство функций погибших гемопоэтических клеток с помощью медикаментозных средств в течение достаточно длительного периода аплазии костного мозга практически невозможно. Один из путей решения этой проблемы заключается в использовании технологий клеточной терапии радиационных поражений.

К настоящему времени описаны три основных метода клеточной терапии ОЛБ [24]:

- трансплантация ГСК костного мозга;
- трансплантация СК периферической крови (ТСКПК);
- трансплантация стромальных клеток (мезенхимальных, эпителиальных и др.), полученных из различных тканей.

ГСК — это мультипотентные стволовые клетки, обладающие способностью к дифференцировке и самообновлению. Вопрос о том, сможет ли инфузия ГСК после радиационного воздействия способствовать восстановлению пула клеток периферической крови, давно дискутируется в литературе и среди клиницистов. Терапевтический потенциал трансплантации кроветворных клеток костного мозга показан в исследованиях E. Lorenz и соавт., в 1951 г. установивших, что инфузия клеток костного мозга, полученных от гомологичных животных, через 10–15 мин после облучения в летальных дозах, способствовала снижению летальности мышей на 30 %, морских свинок — на 50 % [2]. При этом инфузия клеток костного мозга от гетерологичных животных хотя и имела определенный терапевтический эффект, но не защищала облученных особей от гибели. Более высокая смертность при гетерологичной трансплантации костного мозга была обусловлена РТПХ, однако в то время еще не было четкого понятия о данном осложнении трансплантации ГСК.

В последующие годы эффективность трансплантации ГСК неоднократно подтверждалась во многих исследованиях на разных экспериментальных моделях с острым радиационным синдромом, однако несмотря на многообещающие результаты, при клиническом применении эффекты инфузий ГСК все еще спорны.

Подобная процедура может быть максимально эффективной в случае проведения трансплантации костного мозга, полученного от однояйцевого близнеца, или собственного сохранившего жизнеспособность костного мозга, взятого и законсервированного перед облучением. Есть данные о положительных результатах пересадки

аутологичного костного мозга, предварительно облученного с терапевтической целью, больным лейкозом, апластической анемией, а также при лечении осложнений после лучевой и химиотерапии [21].

В качестве потенциально эффективного варианта аутотрансплантации костного мозга при костномозговом синдроме рассматривалось введение костного мозга, взятого из экранированных во время облучения участков, что могло бы привести к «расселению» гемопоэтических клеток-предшественников и увеличению объема активной гемопоэтической ткани. Но на практике эффективность этого способа трансплантации костного мозга оказалась незначительной, так как спонтанная регенерация гемопоэза в более облученных зонах чаще всего идет быстрее, чем приживание и созревание клеток-предшественников аутотрансплантата, взятого из необлученного участка [25–27].

Наиболее изучена возможность использования при ОЛБ пересадки донорского (аллогенного) костного мозга. Предполагалось, что глубокое подавление механизмов иммунологической защиты у реципиента должно способствовать приживлению пересаженных клеток и приводить к созданию так называемой «радиационной химеры», т. е. к существованию в организме реципиента клеток двух генотипов, причем в кроветворной ткани преобладающими станут клетки, происходящие от донора. Однако уже первые клинические испытания трансплантации аллогенного костного мозга (ТАКМ) показали не только его недостаточную эффективность как средства заместительной терапии на период полной миелодепрессии, но и то, что он часто становится источником тяжелых, нередко фатальных, осложнений [27].

Одно из первых описанных в литературе клинических испытаний ТАКМ, проведенное в Институте Кюри (Париж, Франция) в 1958 г. при лечении радиационного поражения у 4 пострадавших в аварии на экспериментальном ядерном реакторе (Винча, Югославия), оказалось неудачным [28, 29]. У пострадавших наблюдался не только гемопоэтическая, но и более тяжелые формы ОЛБ. Применение ГСК не привело к значимому восстановлению пула клеток периферической крови, что, по мнению авторов, было связано с поздними сроками их введения.

Самую большую на сегодняшний день группу пациентов, которым была проведена ТАКМ, составляют 13 человек, облученных при ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС. У 11 больных были обнаружены доказательства приживания трансплантата, однако у 7 из них развилась т. н. «вторичная болезнь» — иммунологическая РТПХ, тяжелые осложнения при HLA-неидентичных трансплантациях костного мозга. Из 13 пациентов в итоге выжили двое (дозы облучения 5,8 и 9 Гр). У обоих к 32–35-м сут произошло отторжение временно функционирующего трансплантата в начале восстановления собственного гемопоэза [27]. Во всех перечисленных выше случаях основными причинами летального исхода явились полиорганная недостаточность, аспергиллез и веноокклюзионная болезнь.

По данным S. Asano (2012), трансплантации аллогенных ГСК были проведены около 50 пациентам с ОЛБ [30], при этом медиана выживаемости этих пациентов не превышала 1 мес, что заставляет исследователей ставить под сомнение эффективность ГСК при остром лучевом поражении.

Принимая во внимание полученные данные, Международная конференция экспертов по достижению консенсуса для оценки потенциального использования ТАКМ при остром облучении разработала рекомендации, суть которых сводится к следующему [31–33]:

1) HLA-идентичные трансплантации (или трансплантации от полностью совместимых доноров-сисбсов) с наименьшим риском могут быть использованы при относительно равномерном облучении в диапазоне доз 10–15 Гр; гаплоидентичные трансплантации должны быть полностью исключены;

2) ТАКМ не рекомендован при облучении в дозах менее 10 Гр, при неравномерном гамма-нейтронном воздействии, сочетанном или внутреннем облучении;

3) для снижения риска РТПХ рекомендованы различные подходы, включающие: иммунодепрессию реципиента, предварительное удаление Т-клеток из донорского костного мозга, введение реципиенту гранулоцитарного или гранулоцитарно-макрофагального стимулирующих ростовых факторов (Г-КСФ, ГМ-КСФ), сочетанное использование аллогенных клеток костного мозга и стволовых клеток периферической крови, ТАКМ, взятого от донора, примированного гемопоэтическими ростовыми факторами.

Трансплантация ГСК имеет серьезные ограничения, которые прежде всего обусловлены известными сложностями с получением аутологичных стволовых клеток. При аллогенной ТГСК у 79 % пациентов диагностируется синдром «приживления», возникающий независимо от РТПХ и проявляющийся лихорадкой, синдромом капиллярной утечки в результате повреждения микрососудов легких, кожными высыпаниями и полиорганной дисфункцией [34–35]. Аллогенная ТГСК имеет и другие трудно-разрешимые в настоящее время ограничения, в частности сложности с подбором HLA-совместимых доноров кроветворных клеток, необходимость прекондиционирования ГСК перед трансплантацией. Применение иммуносупрессоров с целью предотвращения РТПХ после аллогенной ТГСК также может стать причиной развития тяжелых инфекционных осложнений и жизнеугрожающих состояний. Кроме того, сохраняется риск возникновения РТПХ, что существенно усложняет достижение благоприятного исхода. Данные факторы в сочетании с небольшим клиническим опытом лечения пациентов с ОЛБ и отсутствием клинического опыта привели к ограничению применения ТГСК и недостаточной успешности терапии костномозговой формы ОЛБ.

Тем не менее данное направление клеточной терапии имеет свой несомненный потенциал и, вполне возможно,

преодоление имеющихся сложностей может значительно повысить эффективность клеточной терапии с использованием ГСК и способствовать повышению выживаемости и качества жизни пациентов с ОЛБ [36].

В последние годы интенсивно изучаются и другие возможности повышения эффективности и безопасности ТАКМ, в частности сочетание процедуры с введением антицерамидных антител, МСК и эндотелиальных клеток [4]. Опубликованы результаты лечения 32-летнего пациента, облученного в дозе 14,5 Гр γ -лучами от ^{60}Co источника при внештатной ситуации в Китае в 2008 г. [37]. Ввиду экстренности ситуации, быстрого развития симптомов ОЛБ и отсутствия ГСК от HLA-совместимых доноров было принято решение об аллогенной трансплантации ГСК в сочетании с инфузией МСК, которые проводились начиная с 8-х сут после получения пациентом смертельной дозы ионизирующего излучения. МСК от 10 доноров после культивирования вводили пациенту внутрикостно или подкожно в количестве от $1,1$ до 11×10^7 клеток (в среднем 5×10^7). После первой трансплантации ГСК отмечалось восстановление гемопоэза, выражающееся в снижении тяжести лейко- и тромбоцитопении, а также заживление лучевых ожогов кожи. Несмотря на то что развившееся тяжелое поражение кишечника привело к развитию сепсиса и гибели пациента, было показано, что применение МСК позволило предотвратить РТПХ.

ТСКПК может быть проведена в двух основных вариациях, испытанных главным образом в онкогематологии, — путем обычной трансплантации аллогенных СК либо путем трансплантации СК, примированных гемопоэтическими факторами роста [26]. Следует отметить, что мобилизованные цитокинами клетки периферической крови приводят к более быстрому восстановлению уровня гранулоцитов и тромбоцитов, чем трансплантация находящихся в стадии покоя клеток костного мозга [17]. Их преимуществом является то, что они наряду с СК, влияющих на более позднюю фазу приживления трансплантата, содержат большое количество коммитированных предшественников, которые обеспечивают раннюю стадию приживления трансплантата. Значительно снизить риск отторжения трансплантированных СК периферической крови позволяет применение иммуносорбирующих колонок, при этом эффект определяется как обогащением трансплантата CD34 клетками, так и истощением пула Т-клеток. Считается, что для успешного проведения ТСКПК реципиенту необходимо ввести $2\text{--}5 \times 10^6$ клеток/кг [21].

Одним из последствий облучения в высоких дозах является развитие микро- и макроангиопатии в жизненно важных органах, обуславливающее развитие их диффузной дисфункции [38]. Установлено, что нарушение функции и структуры эндотелиальных клеток (ЭК) сосудистой стенки, индуцированное облучением, приводит к некрозу и гипоксии тканей. В частности, лучевое повреждение ЭК сосудов костного мозга может быть настолько тяжелым, что трансплантированные ГСК не способны прижиться

и восстановить кроветворение. Имеющиеся данные свидетельствуют, что трансплантация ЭК способствует регенерации облученных тканей, в т. ч. и костного мозга [39]. Удалось добиться трансформации амниотических клеток человека в сосудистые ЭК, которые можно вводить одновременно или последовательно с ГСК и клетками-предшественниками через 24 ч после радиационного воздействия [39].

Механизмы действия ЭК на поврежденные облучением ткани до конца не изучены. Предполагается, что трансплантированные ЭК секретируют тканеспецифические ангиокринные факторы роста, необходимые для поддержания гомеостаза и непосредственного стимулирования регенерации СК и клеток-предшественников, что способствует реконструкции сосудистой ниши костного мозга, ускорению восстановления кроветворения. К числу ангиокринных факторов, продуцируемых синусоидальными ЭК костного мозга, относятся Kit и Notch лиганды, фактор роста эндотелия сосудов, а также широкий спектр других стимулирующих цитокинов, которые координируют самообновление и дифференцировку ГСК [39]. Добавление этих и других ангиогенных факторов роста в кровоток при трансплантации ЭК необходимо для предотвращения апоптоза и истощения стволового пула.

В целом полученные к настоящему времени данные свидетельствуют, что:

- трансплантация и приживление ЭК в различные облученные органы, в т. ч. и костный мозг, инициирует более быстрое восстановление повреждений за счет продукции органоспецифичных ангиокринных факторов роста;
- миграция ЭК в облученные кроветворные органы способствует реконструкции поврежденного микроокружения, облегчая приживление аллогенных ГСК;
- приживление ЭК позволяет сформировать новые кровеносные сосуды, улучшающие трофику пораженных радиацией тканей.

Одним из наиболее перспективных современных методов клеточной противолучевой терапии является использование мультипотентных МСК (ММСК), что обусловлено их высоким регенераторным потенциалом, противовоспалительным и противofiбротическим действием, способностью стимулировать пролиферацию и дифференцировку гемопоэтических клеток [4].

Терапия на основе ММСК может оказаться весьма эффективным подходом, получившим название «регенеративная медицина», а ее основная цель — заставить клетки и ткани регенерировать, обновляться и восстанавливать свои функции. Достигается это ускорением дифференцировки клеток-предшественников или активацией СК, находящихся в депо [40].

Способность к миграции МСК позволила предположить, что терапевтический эффект ММСК является результатом их встраивания в поврежденные органы-мишени и дальнейшей пролиферативной активности,

дифференциации и восстановления клеточной численности. В настоящее время многие авторы поддерживают теорию паракринного действия мезенхимальных клеток и считают его основным механизмом, отвечающим за восстановление ткани [40]. Паракринный эффект терапии МСК *in vivo* был показан в случаях повреждения сердца и легких в результате радиационного воздействия [41].

ММСК считаются важнейшим элементом в регенеративной медицине из-за мощной способности к секреции цитокинов, иммунной регуляции и множественной дифференцировке [42]. Клеточная терапия, связанная с применением МСК, может подразделяться на 3 группы:

- 1) трансплантация совместно с ГСК для поддержания системы кроветворения;
- 2) регенерация и восстановление различных поврежденных тканей (костной, эпителиальной, сердечной и др.);
- 3) подавление реакций, вызывающих отторжение пересаженного костного мозга, и других аутоиммунных процессов.

Ионизирующее излучение вызывает апоптоз клеток кроветворной системы, в то время как МСК остаются жизнеспособными и способны к пролиферации и дифференцировке [43]. Не исключено, что ММСК могут выявлять повреждения ДНК и включать систему репарации, основным механизмом которой является экспрессия высоких уровней DDR белков (*DNA Damage Response*), в частности цитокинов, снижающих экспрессию белка p53 в облученных клетках, что приводит к подавлению апоптоза и позволяет ММСК выжить [44, 45].

Все больше исследователей применяют терапию ММСК при радиационных поражениях, что связано со способностью цитокинов и ростовых факторов активировать и притягивать ММСК в очаг поражения (это явление описывается как трофическое действие) [43].

Анализируя значимую роль МСК для системы кроветворения, можно предположить, что МСК при совместном введении с ГСК должны положительно повлиять на их способность приживления. Такие экспериментальные работы уже проведены и опубликованы [46, 47], а также нашли свое подтверждение в ряде клинических исследований [48, 49].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные данные показывают, что в настоящее время клеточные технологии наряду с применением цитокинов, являются одним из наиболее перспективных направлений лечения радиационных поражений. Важным преимуществом клеточной терапии ОЛБ является то обстоятельство, что, в отличие от лечения цитокинами и факторами роста, она не требует наличия определенного (базового) уровня стволовых и прогениторных клеток, являющихся главной мишенью для проявления противолучевого эффекта цитокинов.

Приведенные выше данные свидетельствуют, что использование полипотентных МСК является одним из наиболее перспективных методов клеточной терапии лучевых поражений. Помимо высокой противолучевой активности МСК обладают рядом других важных преимуществ по сравнению с ТАКМ.

Судя по данным литературы, весьма перспективным для использования при лучевых поражениях методом клеточной технологии является трансплантация стволовых ЭК, которые при введении в костный мозг реконструируют микроокружение гемопоэтической ткани, способствуют формированию новых кровеносных сосудов, предотвращающих развитие радиационно-индуцированного фиброза и рубцевания, снижают вероятность онкогенеза.

В целом предоставленные данные свидетельствуют о несомненной перспективности разработки методов

лечения радиационных поражений, основанных на применении костномозговых технологий.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Финансирование данной работы не проводилось. Поисково-аналитическая работа проведена на личные средства авторского коллектива

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

Этическая экспертиза. Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Fliedner T.M. Medical management of radiation accident: Manual on the acute radiation syndrome (METREPOL). Oxford: The British Institute of Radiology, 2001.
2. Lorenz E., Uphoff D., Reid T., Shelton E. Modification of irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injections // J. Natl. Cancer Inst. 1951. Vol. 12, No. 1. P. 197–201.
3. Rios C., Jourdain J.-R., DiCarlo A.L. Cellular therapies for treatment of radiation injury after a mass casualty incident // Radiat. Res. 2017. Vol. 188, No. 2. P. 242–245. DOI: 10.1667/RR14835.1
4. Калмыкова Н.В., Александрова С.В. Терапевтическое действие полипотентных мезенхимальных стромальных клеток после радиационного воздействия // Радиационная биология. Радиоэкология. 2016. Т. 56, № 2. С. 117–137. DOI: 10.7868/S0869803116020077
5. Eaton E.B., Varney T.R. Mesenchymal stem cell therapy for acute radiation syndrome: innovative medical approaches in military medicine // Mil. Med. Res. 2015. Vol. 2, No. 1. P. 2. DOI: 10.1186/s40779-014-0027-9
6. Rezvani M. Therapeutic potential of mesenchymal stromal cells and extracellular vesicles in the treatment of radiation lesions — a review // Cells. 2021. Vol. 10, No. 2. P. 427. DOI: 10.3390/cells10020427
7. Москалев А.В., Гумилевский Б.Ю., Апчел А.В., Цыган В.Н. Стволовые клетки и их физиологические эффекты // Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2019. Т. 58, № 4. С. 172–180.
8. Merimi M., El-Majzoub R., Lagneaux L., et al. The therapeutic potential of mesenchymal stromal cells for regenerative medicine: current knowledge and future understandings // Front. Cell Dev. Biol. 2021. No. 9. Art. 661532. DOI: 10.3389/fcell.2021.661532
9. Wang L., Li Y., Chen X., et al. MCP-1, MIP-1, IL-8 and ischemic cerebral tissue enhance human bone marrow stromal cell migration in interface culture // Hematol. 2002. Vol. 7, No. 2. P. 113–117. DOI: 10.1080/10245330290028588
10. François S., Bensidhoum M., Mouiseddine M., et al. Local irradiation not only induces homing of human mesenchymal stem cells at exposed sites but promotes their widespread engraftment

to multiple organs: a study of their quantitative distribution after irradiation damage // Stem Cells. 2006. Vol. 24, No. 4. P. 1020–1029. DOI: 10.1634/stemcells.2005-0260

- 11. Pittenger M.F., Martin B.J. Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics // Circ. Res. 2004. Vol. 95, No. 1. P. 9–20. DOI: 10.1161/01.RES.0000135902.99383.6f
- 12. Fukumoto R. Mesenchymal stem cell therapy for acute radiation syndrome // Mil. Med. Res. 2016. Vol. 3, No. 1. P. 17. DOI: 10.1186/s40779-016-0086-1
- 13. Sharma A., Chakraborty A., Jaganathan B. Review of the potential of mesenchymal stem cells for the treatment of infectious diseases // World J. Stem Cells. 2021. Vol. 13, No. 6. P. 568–593. DOI: 10.4252/wjsc.v13.i6.568
- 14. Pluristem Therapeutics Inc. U.S. FDA clears Pluristem's IND to treat victims exposed to acute radiation. 2018. [updated 2018 May 1]. Available from: http://www.pluristem.com/wp-content/uploads/2018/04/ARS_IND_final_isa.pdf
- 15. Singh V.K., Seed T.M. Pharmacological management of ionizing radiation injuries: current and prospective agents and targeted organ systems // Expert Opin. Pharmacother. 2020. Vol. 21, No. 3. P. 317–337. DOI: 10.1080/14656566.2019.1702968
- 16. Fliedner T.M. Blood stem cell transplantation from preclinical to clinical models // Stem cells. 1995. Vol. 13, No. 3. P. 1–12. DOI: 10.1002/stem.5530130702
- 17. Шиффман Ф.Дж. Патология физиологии крови / Под ред. акад. Ю.В. Наточина; пер. с англ. Н.Б. Серебряная, В.И. Соловьев. СПб.: Невский диалект, М.: БИНОМ, 2000. 448 с.
- 18. Fliedner T.M. The role of blood stem cells in hematopoietic cell renewal // Stem Cells. 1998. Vol. 16, No. 1. P. 13–29. DOI: 10.1002/stem.160361
- 19. Fliedner T., Graessle D., Paulsen C., Reimers K. Structure and function of bone marrow hemopoiesis: mechanism of response to ionizing radiation exposure // Cancer Biother. Radiopharm. 2002. Vol. 17, No. 4. P. 405–426. DOI: 10.1089/108497802760363204
- 20. Fliedner T.M., Chao N.J., Bader J.L., et al. Stem cells, multiorgan failure in radiation emergency medical preparedness: a U.S. /

- European Consultation Workshop // *Stem Cells*. 2009. Vol. 27, No. 5. P. 1205–1211. DOI: 10.1002/stem.16
21. Бутомо Н.В., Гребенюк А.Н., Легеза В.И., и др. Основы медицинской радиобиологии / Под ред. И.Б. Ушакова СПб.: Фолиант, 2004. 384 с.
 22. Бойд В., Флиднер Т., Аршамбо Д. Радиационная гибель млекопитающих. Нарушение кинетики клеточных популяций. М.: Атомиздат, 1971. 3610 с.
 23. Груздев Г.П. Острый радиационный костномозговой синдром. М.: Медицина. 1988. 144 с.
 24. Власенко А.Н., Гайдук С.В., Легеза В.И., и др. Клиническая радиология / Под ред. Ю.Ш. Халимова. СПб.: Фолиант, 2020. 448 с.
 25. Koenig K.L., Hatchett R.E., Goans Hatchett R.J., et al. Medical treatment of radiological casualties: current concepts // *Ann. Emergency Med.* 2005. Vol. 45, No. 6. P. 643–652. DOI: 10.1016/j.annemergmed.2005.01.020
 26. Селедовкин Г.Д., Барабанова А.В. Острая лучевая болезнь. Радиационная медицина / Под ред. Л.А. Ильина. Т. 2. М.: Изд-во АТ, 2001. 432 с.
 27. Васин М.В. Средства профилактики и лечения лучевых поражений. М., 2006. 340 с.
 28. Andrews G.A. Criticality accidents in Vinca, Yugoslavia, and Oak Ridge, Tennessee. Comparison of radiation injuries and results of therapy // *JAMA*. 1962. Vol. 179, No. 3. P. 191–197. DOI: 10.1001/jama.1962.03050030005002
 29. Баранов А.Е., Рождественский Л.М. Аналитический обзор схем лечения острой лучевой болезни, используемых в эксперименте и клинике // *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2008. Т. 48, № 3. С. 287–202.
 30. Asano S. Current status of hematopoietic stem cell transplantation for acute radiation syndromes // *Int. J. Hematol.* 2012. Vol. 95, No. 3. P. 227–231. DOI: 10.1007/s12185-012-1027-8
 31. Гребенюк А.Н., Легеза В.И., Гладких В.Д., и др. Практическое руководство по использованию медицинских средств противорадиационной защиты при чрезвычайных ситуациях и обеспечении ими аварийных медико-санитарных формирований и региональных аварийных центров. М.: Комментарий, 2015. 304 с.
 32. Аветисов Г.М., Владимиров В.Г., Гончаров С.Ф., и др. Синдромы острой лучевой болезни. Клинические проявления, профилактика и лечение. М.: ВЦМК «Защита», 2003. 244 с.
 33. Гладких В.Д., Баландин Н.А., Башарин В.А., и др. Состояние и перспективы развития средств профилактики и лечения радиационных поражений / Под ред. В.Д. Гладких. М.: Комментарий, 2017. 304 с.
 34. Omer A., Kim H., Yalamarti B., et al. Engraftment syndrome after allogeneic hematopoietic cell transplantation in adults // *Am. J. Hematol.* 2014. Vol. 89, No. 7. P. 698–705. DOI: 10.1002/ajh.23716
 35. Spitzer T.R. Engraftment syndrome: double-edged sword of hematopoietic cell transplants // *Bone Marrow Transplant.* 2015. Vol. 50, No. 4. P. 469–475. DOI: 10.1038/bmt.2014.296
 36. Qian L., Cen J. Hematopoietic stem cells and mesenchymal stromal cells in acute radiation syndrome // *Oxid. Med. Cell Longev.* 2020. Vol. 20. Art. 8340756. DOI: 10.1155/2020/8340756
 37. Guo M., Dong Z., Qiao J., et al. Severe acute radiation syndrome: treatment of a lethally ⁶⁰Co-source irradiated accident victim in China with HLA-mismatched peripheral blood stem cell transplantation and mesenchymal stem cells // *J. Radiat. Res.* 2014. Vol. 55, No. 2. P. 205–209. DOI: 10.1093/jrr/rrt102
 38. Baselet B., Sonveaux P., Baatout S., Aerts A. Pathological effects of ionizing radiation: endothelial activation and dysfunction // *Cell Mol. Life Sci.* 2019. Vol. 76, No. 4. P. 699–728. DOI: 10.1007/s00018-018-2956-z
 39. Rafii S., Ginsberg M., Scandura J., et al. Transplantation of endothelial cells to mitigate acute and chronic radiation injury to vital organs // *Radiat. Res.* 2016. Vol. 186, No. 2. P. 196–202. DOI: 10.1667/RR14461.1
 40. Gao S., Zhao Z., Wu R., et al. Bone marrow mesenchymal stem cell transplantation improves radiation-induced heart injury through DNA damage repair in rat model // *Radiat. Environment. Biophys.* 2017. Vol. 56, No. 1. P. 3–77. DOI: 10.1007/s00411-016-0675-0
 41. Xia C., Chang P., Zhang Y., et al. Therapeutic effects of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on radiation-induced lung injury // *Oncol. Rep.* 2016. Vol. 35, No. 2. P. 731–738. DOI: 10.3892/or.2015.4433
 42. Klimczak A., Kozłowska U. Mesenchymal stromal cells and tissue-specific progenitor cells: their role in tissue homeostasis // *Stem Cells International*. 2016. Vol. 2016. Art. 4285215. DOI: 10.1155/2016/4285215
 43. Fekete N., Erle A., Amann E., et al. Effect of high-dose irradiation on human bone-marrow-derived mesenchymal stromal cells // *Tissue Eng. Part C Methods*. 2014. Vol. 21, No. 2. P. 112–122. DOI: 10.1089/ten.TEC.2013.0766
 44. Prendergast A.M., Cruet-Hennequart S., Shaw G., et al. Activation of DNA damage response pathways in human mesenchymal stem cells exposed to cisplatin or γ-irradiation // *Cell Cycle*. 2011. Vol. 10, No. 21. P. 3768–3777. DOI: 10.4161/cc.10.21.17972
 45. Sugrue T., Brown J., Lowndes N., Ceredig R. Multiple facets of the DNA damage response contribute to the radioresistance of mouse mesenchymal stromal cell lines // *Stem cells*. 2013. Vol. 31, No. 1. P. 137–145. DOI: 10.1002/stem.1222
 46. Bensidhoum M., Chapel A., Francois S., et al. Homing of in vitro expanded Stro1⁺ Stro1⁺ human mesenchymal stem cells into the NOD/SCID mouse and their role in supporting human CD34 cell engraftment // *Blood*. 2004. Vol. 103, No. 9. P. 3313–3319. DOI: 10.1182/blood-2003-04-1121
 47. Kim D.H., Yoo K.H., Yim Y.S., et al. Cotransplanted bone marrow derived mesenchymal stem cells (MSC) enhanced engraftment of hematopoietic stem cells in a MSC-dose dependent manner in NOD/SCID mice // *J. Korean Med. Sci.* 2006. Vol. 21, No. 6. P. 1000–1004. DOI: 10.3346/jkms.2006.21.6.1000
 48. Koc O.N., Gerson S.L., Cooper B.W., et al. Rapid hematopoietic recovery after confusion of autologous blood stem cells and culture expanded marrow mesenchymal stem cells in advanced breast cancer patients receiving high dose chemotherapy // *J. Clin. Oncol.* 2000. Vol. 18, No. 2. P. 307–316. DOI: 10.1200/JCO.2000.18.2.307
 49. Ball L.M., Bernardo M.E., Roelofs H., et al. Cotransplantation of ex vivo expanded mesenchymal stem cells accelerates lymphocyte recovery and may reduce the risk of graft failure in haploidentical hematopoietic stem cell transplantation // *Blood*. 2007. Vol. 110, No. 7. P. 2764–2767. DOI: 10.1182/blood-2007-04-087056

REFERENCES

1. Fliedner TM. *Medical management of radiation accident: Manual on the acute radiation syndrome (METREPOL)*. Oxford: The British Institute of Radiology; 2001.
2. Lorenz E, Uphoff D, Reid T, Shelton E. Modification of irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injections. *J Natl Cancer Inst*. 1951;12(1):197–201.
3. Rios C, Jourdain J-R, DiCarlo AL. Cellular therapies for treatment of radiation injury after a mass casualty incident. *Radiat Res*. 2017;188(2):242–245. DOI: 10.1667/RR14835.1
4. Kalmykova NV, Alexandrova SV. Therapeutic effects of multipotent mesenchymal stromal cells after irradiation. *Radiation biology. Radioecology*. 2016;56(2):117–137. (In Russ.) DOI: 10.7868/S0869803116020077
5. Eaton EB, Varney TR. Mesenchymal stem cell therapy for acute radiation syndrome: innovative medical approaches in military medicine. *Mil Med Res*. 2015;2(1):2. DOI: 10.1186/s40779-014-0027-9
6. Rezvani M. Therapeutic potential of mesenchymal stromal cells and extracellular vesicles in the treatment of radiation lesions — a review. *Cells*. 2021;10(2):427. DOI: 10.3390/cells10020427
7. Moskalev AB, Gumilevskiy BYu, Apchel AV, Tsygan VN. Stem cells and their physiological effects. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2019;68(4):172–180. (In Russ.)
8. Merimi M, El-Majzoub R, Lagneaux L, et al. The therapeutic potential of mesenchymal stromal cells for regenerative medicine: current knowledge and future understandings. *Front Cell Dev Biol*. 2021;(9):661532. DOI: 10.3389/fcell.2021.661532
9. Wang L, Li Y, Chen X, et al. MCP-1, MIP-1, IL-8 and ischemic cerebral tissue enhance human bone marrow stromal cell migration in interface culture. *Hematol*. 2002;7(2):113–117. DOI: 10.1080/10245330290028588
10. François S, Bensidhoum M, Mouisseddine M, et al. Local irradiation not only induces homing of human mesenchymal stem cells at exposed sites but promotes their widespread engraftment to multiple organs: a study of their quantitative distribution after irradiation damage. *Stem Cells*. 2006;24(4):1020–1029. DOI: 10.1634/stemcells.2005-0260
11. Pittenger MF, Martin BJ. Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics. *Circ Res*. 2004;95(1):9–20. DOI: 10.1161/01.RES.0000135902.99383.6f
12. Fukumoto R. Mesenchymal stem cell therapy for acute radiation syndrome. *Mil Med Res*. 2016;3(1):17. DOI: 10.1186/s40779-016-0086-1
13. Sharma A, Chakraborty A, Jaganathan B. Review of the potential of mesenchymal stem cells for the treatment of infectious diseases. *World J Stem Cells*. 2021;13(6):568–593. DOI: 10.4252/wjsc.v13.i6.568
14. Pluristem Therapeutics Inc. U.S. FDA clears Pluristem's IND to treat victims exposed to acute radiation. 2018. [updated 2018 May 1]. Available from: http://www.pluristem.com/wp-content/uploads/2018/04/ARS_IND_final_isa.pdf
15. Singh VK, Seed TM. Pharmacological management of ionizing radiation injuries: current and prospective agents and targeted organ systems. *Expert Opin Pharmacother*. 2020;21(3):317–337. DOI: 10.1080/14656566.2019.1702968
16. Fliedner TM. Blood stem cell transplantation from pre-clinical to clinical models. *Stem cells*. 1995;13(3):1–12. DOI: 10.1002/stem.5530130702
17. Schiffman FJ. *Hematologic Pathophysiology*. Acad. Natochin YuV, ed. Serebryanaya NB, Solovyov VI, translated from English. Saint Petersburg: Nevsky dialect Publishing House, Moscow: BINOM Publishing House; 2000. 448 p. (In Russ.)
18. Fliedner TM. The role of blood stem cells in hematopoietic cell renewal. *Stem Cells*. 1998;16(1):13–29. DOI: 10.1002/stem.160361
19. Fliedner T, Graessle D, Paulsen C, Reimers K. Structure and function of bone marrow hemopoiesis: mechanism of response to ionizing radiation exposure. *Cancer Biother Radiopharm*. 2002;17(4):405–426. DOI: 10.1089/108497802760363204
20. Fliedner TM, Chao NJ, Bader JL, et al. Stem cells, multiorgan failure in radiation emergency medical preparedness: a U.S. / European Consultation Workshop. *Stem Cells*. 2009;27(5):1205–1211. DOI: 10.1002/stem.16
21. Butomo NV, Grebenyuk AN, Legeza VI, et al. *Fundamentals of medical radiobiology*. Ushakov IB, ed. Saint Petersburg: Foliant Publisher; 2004. 384 p. (In Russ.)
22. Boyd V, Fliedner T, Arshambeau D. *Radiation death of mammals. Violation of the kinetics of cell populations*. Moscow: Atomizdat Publisher; 1971. 3610 p. (In Russ.)
23. Gruzdev GP. *Acute radiation bone marrow syndrome*. Moscow: Meditsina Publisher; 1988. 144 p. (In Russ.)
24. Vlasenko AN, Gayduk SV, Legeza VI, et al. *Clinical Radiology*. Khalimov YuSh, ed. Saint Petersburg: Foliant Publisher; 2020. 448 p. (In Russ.)
25. Koenig KL, Hatchett RE, Goans Hatchett RJ, et al. Medical treatment of radiological casualties: current concepts. *Ann Emergency Med*. 2005;45(6):643–652. DOI: 10.1016/j.annemergmed.2005.01.020
26. Seledovkin GD, Barabanova AV. *Acute radiation sickness. Radiation medicine*. Ilyin LA., ed. Moscow: AT Publishing House; 2001. 432 p. (In Russ.)
27. Vasin MV. *Means for the prevention and treatment of radiation injuries*. Moscow; 2006. 340 p. (In Russ.)
28. Andrews GA. Criticality accidents in Vinca, Yugoslavia, and Oak Ridge, Tennessee. Comparison of radiation injuries and results of therapy. *JAMA*. 1962;179(3):191–197. DOI: 10.1001/jama.1962.03050030005002
29. Baranov AE, Rozhdestvensky LM. Analytical review of treatment regimens for acute radiation sickness used in experiment and clinic. *Radiation biology. Radioecology*. 2008;48(3):287–202. (In Russ.)
30. Asano S. Current status of hematopoietic stem cell transplantation for acute radiation syndromes. *Int J Hematol*. 2012;95(3):227–231. DOI: 10.1007/s12185-012-1027-8
31. Grebenyuk AN, Legeza VI, Gladkikh VD, et al. *Practical guidance on the use of medical means of radiation protection in emergency situations and their provision to emergency medical units and regional emergency centers*. Moscow: Kommentariy Publisher; 2015. 304 p. (In Russ.)
32. Avetisov GM, Vladimirov VG, Goncharov SF, et al. *Syndromes of acute radiation sickness. Clinical manifestations, prevention and treatment*. Moscow: "Zashchita" All-Russian Center for Disaster Medicine Publishing House; 2003. 244 p. (In Russ.)
33. Gladkikh VD, Balandin NA, Basharin VA, et al. *Status and prospects for the development of means for the prevention and treatment of radiation injuries*. Gladkikh VD, ed. Moscow: Kommentariy Publisher; 2017. 304 p. (In Russ.)
34. Omer A, Kim H, Yalamarti B, et al. Engraftment syndrome after allogeneic hematopoietic cell transplantation in adults. *Am J Hematol*. 2014;89(7):698–705. DOI: 10.1002/ajh.23716

35. Spitzer TR. Engraftment syndrome: double-edged sword of hematopoietic cell transplants. *Bone Marrow Transplant.* 2015;50(4):469–475. DOI: 10.1038/bmt.2014.296
36. Qian L, Cen J. Hematopoietic stem cells and mesenchymal stromal cells in acute radiation syndrome. *Oxid Med Cell Longev.* 2020;20:8340756. DOI: 10.1155/2020/8340756
37. Guo M, Dong Z, Qiao J, et al. Severe acute radiation syndrome: treatment of a lethally ⁶⁰Co-source irradiated accident victim in China with HLA-mismatched peripheral blood stem cell transplantation and mesenchymal stem cells. *J Radiat Res.* 2014;55(2):205–209. DOI: 10.1093/jrr/rrt102
38. Baselet B, Sonveaux P, Baatout S, Aerts A. Pathological effects of ionizing radiation: endothelial activation and dysfunction. *Cell Mol Life Sci.* 2019;76(4):699–728. DOI: 10.1007/s00018-018-2956-z
39. Rafii S, Ginsberg M, Scandura J, et al. Transplantation of endothelial cells to mitigate acute and chronic radiation injury to vital organs. *Radiat Res.* 2016;186(2):196–202. DOI: 10.1667/RR14461.1
40. Gao S, Zhao Z, Wu R, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell transplantation improves radiation-induced heart injury through DNA damage repair in rat model. *Radiat Environment Biophys.* 2017;56(1):3–77. DOI: 10.1007/s00411-016-0675-0
41. Xia C, Chang P, Zhang Y, et al. Therapeutic effects of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on radiation-induced lung injury. *Oncol Rep.* 2016;35(2):731–738. DOI: 10.3892/or.2015.4433
42. Klimczak A, Kozłowska U. Mesenchymal stromal cells and tissue-specific progenitor cells: their role in tissue homeostasis. *Stem Cells International.* 2016;2016:4285215. DOI: 10.1155/2016/4285215
43. Fekete N, Erle A, Amann E, et al. Effect of high-dose irradiation on human bone-marrow-derived mesenchymal stromal cells. *Tissue Eng Part C Methods.* 2014;21(2):112–122. DOI: 10.1089/ten.TEC.2013.0766
44. Prendergast AM, Cruet-Hennequart S, Shaw G, et al. Activation of DNA damage response pathways in human mesenchymal stem cells exposed to cisplatin or γ -irradiation. *Cell Cycle.* 2011;10(21):3768–3777. DOI: 10.4161/cc.10.21.17972
45. Sugrue T, Brown J, Lowndes N, Ceredig R. Multiple facets of the DNA damage response contribute to the radioresistance of mouse mesenchymal stromal cell lines. *Stem cells.* 2013;31(1):137–145. DOI: 10.1002/stem.1222
46. Bensidhoum M, Chapel A, Francois S, et al. Homing of in vitro expanded Stro1 or Stro1+ human mesenchymal stem cells into the NOD/SCID mouse and their role in supporting human CD34 cell engraftment. *Blood.* 2004;103(9):3313–3319. DOI: 10.1182/blood-2003-04-1121
47. Kim DH, Yoo KH, Yim YS, et al. Cotransplanted bone marrow derived mesenchymal stem cells (MSC) enhanced engraftment of hematopoietic stem cells in a MSC-dose dependent manner in NOD/SCID mice. *J Korean Med Sci.* 2006;21(6):1000–1004. DOI: 10.3346/jkms.2006.21.6.1000
48. Koc ON, Gerson SL, Cooper BW, et al. Rapid hematopoietic recovery after confusion of autologous blood stem cells and culture expanded marrow mesenchymal stem cells in advanced breast cancer patients receiving high dose chemotherapy. *J Clin Oncol.* 2000;18(2):307–316. DOI: 10.1200/JCO.2000.18.2.307
49. Ball LM, Bernardo ME, Roelofs H, et al. Cotransplantation of ex vivo expanded mesenchymal stem cells accelerates lymphocyte recovery and may reduce the risk of graft failure in haploidentical hematopoietic stem cell transplantation. *Blood.* 2007;110(7):2764–2767. DOI: 10.1182/blood-2007-04-087056

ОБ АВТОРАХ

***Владимир Иванович Легеза**, докт. мед. наук, профессор; адрес: 194044, Россия, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1086-8247>;
eLibrary SPIN: 5679-3227;
Web of Science Researcher ID: M-2621-2016;
e-mail: sladkai_parochka@mail.ru

Наталья Владимировна Аксенова, канд. мед. наук;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5645-7072>;
eLibrary SPIN: 6821-6887;
e-mail: nataaks@mail.ru

Елена Викторовна Мурзина, канд. биол. наук;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7052-3665>;
eLibrary SPIN: 5188-0797;
e-mail: elenmurzina@mail.ru

Наталья Викторовна Пак, канд. биол. наук;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1239-5663>;
eLibrary SPIN: 7181-3780;
e-mail: natalya_pak@mail.ru

Ольга Михайловна Веселова,
eLibrary SPIN: 4864-8391;
e-mail: veselova28@mail.ru

AUTHORS' INFO

***Vladimir I. Legeza**, M.D., DSc. (Medicine), Professor; address: 6, Akademika Lebedeva str., Saint Petersburg, 194044, Russia;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1086-8247>;
eLibrary SPIN: 5679-3227;
Web of Science Researcher ID: M-2621-2016;
e-mail: sladkai_parochka@mail.ru

Natalia V. Aksenova, M.D., Ph.D. (Medicine);
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5645-7072>;
eLibrary SPIN: 6821-6887;
e-mail: nataaks@mail.ru

Elena V. Murzina, Ph.D. (Biology);
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7052-3665>;
eLibrary SPIN: 5188-0797;
e-mail: elenmurzina@mail.ru

Natalya V. Pak, Ph.D. (Biology);
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1239-5663>;
eLibrary SPIN: 7181-3780;
e-mail: natalya_pak@mail.ru

Olga M. Veselova,
eLibrary SPIN: 4864-8391;
e-mail: veselova28@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

УДК 616.92/93

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar109304>

Научная статья

COVID-19 и антимикробная терапия

А.А. Зайцев^{1, 2}, А.М. Макаревич³¹ Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н. Бурденко, Москва, Россия;² Московский государственный университет пищевых производств, Москва, Россия;³ 301 военный клинический госпиталь, Хабаровск, Россия

Актуальность. Одна из проблем ведения больных с новой коронавирусной инфекцией — нерациональное применение антибиотиков. Антибактериальные препараты не активны в отношении вирусной инфекции, включая COVID-19. К сожалению, в реальной клинической практике сохраняется крайне высокий уровень применения антибиотиков, достигающий 70–80 %. Необоснованная антибактериальная терапия приводит к ряду нежелательных явлений, которые могут значительно ухудшить состояние пациента, а порой и привести к жизнеугрожающим последствиям. В данном контексте наиболее важен вопрос формулировки диагноза. В частности, упоминание термина «пневмония» в случае COVID-19 нецелесообразно ни с научной, ни тем более с клинической точки зрения. Наиболее правильным будет называть этот процесс «вирусное или вирус-ассоциированное поражение легких». Это термин позволит расставить приоритеты в выборе тактики ведения больного. То есть вирусное поражение (не пневмония!) сподвигнет практического врача к анализу ситуации, требующей назначения при наличии показаний противовоспалительной (моноклональные антитела, глюкокортикостероиды) и антикоагулянтной терапии, и позволит избежать ненужного в подавляющем числе ситуаций назначения антимикробных препаратов.

Цель — сформулировать критерии назначения антибактериальной терапии у пациентов с COVID-19.

Материалы и методы. В основе исследования — обзор и анализ литературы, касающейся COVID-19, формулирование выводов и рекомендаций.

Результаты. В реальной отечественной практике сохраняется крайне высокий уровень применения антибиотиков, достигающий 70–80 %.

Заключение. Назначение антибактериальной терапии у пациентов с COVID-19 оправдано только при наличии убедительных признаков бактериальной инфекции — появление гнойной мокроты, повышение прокальцитонина крови более 0,25–0,5 нг/мл и уровня лейкоцитов крови более 10 тыс/мкл с повышением количества палочкоядерных нейтрофилов более 10 %.

Ключевые слова: антибактериальная терапия; вирусное поражение легких; COVID-19; критерии назначения антибиотиков; прокальцитонин; SARS-CoV-2; формулировка диагноза.

Как цитировать:

Зайцев А.А., Макаревич А.М. COVID-19 и антимикробная терапия // Известия Российской Военно-медицинской академии. 2022. Т. 41. № 3. С. 345–349. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar109304>

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar109304>
Scientific Article

COVID-19 and antimicrobial therapy

A.A. Zaicev^{1, 2}, A.M. Makarevich³

¹ Academician N.N. Burdenko Main Military Clinical Hospital, Moscow, Russia;

² Moscow State University of Food Production, Moscow, Russia;

³ 301 Military Clinical Hospital, Khabarovsk, Russia

BACKGROUND: One of the problems with managing patients with a new coronavirus infection is the irrational use of antibiotics. Antibacterial drugs are not active against viral infection, including COVID-19. Unfortunately, in actual clinical practice, the level of antibiotic use remains extremely high, reaching 70–80%. Unwanted antibacterial therapy leads to a number of undesirable phenomena that can significantly worsen the patient's condition, and sometimes lead to life-threatening consequences. In this context, the most important question is the formulation of the diagnosis. In particular, the reference to the term “pneumonia”, in the case of COVID-19, is neither scientifically or clinically feasible. The most correct would be to call this process — viral or virus-associated lung damage. This term will allow you to set priorities in the choice of tactics leading the patient. That is, viral lesion (not pneumonia!) will induce the practical doctor to analyze the situation requiring prescription in the presence of indications of anti-inflammatory (monoclonal antibodies, glucocorticosteroids) and anticoagulation therapy, and will avoid unnecessary in the overwhelming number of antimicrobial prescription situations.

AIM: Formulate criteria for prescribing antibacterial therapy in patients with COVID-19.

MATERIALS AND METHODS: The study is based on a review and analysis of the literature on new coronavirus infection, drawing conclusions and recommendations.

RESULTS: In actual Russian practice, the level of use of antibiotics remains extremely high, reaching 70–80%.

CONCLUSION: The prescription of antibacterial therapy in patients with COVID-19 is justified only if there are convincing signs of bacterial infection — the appearance of purulent sputum, increased procalcitonin of blood more than 0,25–0.5 ng/ml, an increase in blood white count of more than 10 thousand/mcl with an increase in the number band neutrophils more than 10%.

Keywords: antibiotic therapy; COVID-19; criteria for the prescription of antibiotics; diagnosis formulation; lung viral lesion; procalcitonin; SARS-CoV-2.

To cite this article:

Zaicev AA, Makarevich A.M. COVID-19 and antimicrobial therapy. *Russian Military Medical Academy Reports*. 2022;41(3):345–349.
DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar109304>

Received: 13.07.2022

Accepted: 19.07.2022

Published: 30.09.2022

АКТУАЛЬНОСТЬ

Одной из наиболее актуальных проблем ведения больных с COVID-19 является отсутствие четкого понимания сути заболевания практическими врачами, четких и понятных алгоритмов фармакотерапии, что ведет к нерациональным режимам лечения и неправильному применению антибиотиков [1–4].

В данном контексте наиболее важен вопрос формулировки диагноза. В частности, упоминание термина «пневмония» в случае COVID-19 нецелесообразно ни с научной, ни тем более с клинической точки зрения [2–4]. Наиболее правильным будет назвать этот процесс «вирусное или вирус-ассоциированное поражение легких» [2–4]. Это термин позволит расставить приоритеты в выборе тактики ведения больного. То есть вирусное поражение (не пневмония!) сподвигнет практического врача к анализу ситуации, требующей назначения при наличии показаний противовоспалительной (моноклональные антитела, глюкокортикостероиды) и антикоагулянтной терапии, и позволит избежать ненужного в подавляющем числе ситуаций назначения антимикробных препаратов [2–4].

ПРИМЕР ФОРМУЛИРОВКИ ДИАГНОЗА

Диагноз. Основное заболевание: COVID-19 (подтвержденный), тяжелое течение. Двустороннее вирусное поражение легких (КТ-3, 60 %). U07.1.

Осложнения: острый респираторный дистресс-синдром, острая дыхательная недостаточность.

Как видим, в случае правильной трактовки клинической ситуации не остается сомнений в ненужности в подавляющем числе случаев COVID-19 назначения антимикробных препаратов.

Однако до настоящего времени это остается краеугольным камнем практического здравоохранения. По данным ряда исследований, более 90 % пациентов с COVID-19 в настоящее время получают антибиотики, в том числе комбинированную терапию и парентеральные препараты в амбулаторных условиях [5–7]. Сложившаяся ситуация будет способствовать значительному росту антимикробной резистентности и иметь серьезные неблагоприятные последствия в будущем. Необоснованная антибактериальная терапия приводит к ряду нежелательных явлений, которые могут значительно ухудшить состояние пациента, а порой и привести к жизнеугрожающим последствиям.

Медицинскими профессиональными организациями [8] неоднократно упоминалось, что антибактериальные препараты не активны в отношении вирусной инфекции, включая COVID-19. Поражение легких при COVID-19 может быть связано с иммунными механизмами — синдромом активации макрофагов с развитием «цитокинового шторма», на который антибактериальные препараты не оказывают воздействия. Повышение уровня С-реактивного

белка и ряда других лабораторных маркеров воспаления у пациентов с COVID-19 в подавляющем числе случаев обусловлено развитием «гипериммунного ответа» и не может рассматриваться как признак бактериального осложнения и, соответственно, как повод для назначения антибактериальной терапии. Единственным лабораторным маркером, позволяющим дифференцировать бактериальный и иммунный процессы у пациента с COVID-19, является уровень прокальцитонина (ПКТ) в крови.

Стоит заметить, что определение биомаркеров воспаления является весьма перспективным направлением, позволяющим проводить дифференциальную диагностику, оценивать эффективность терапии и даже определять оптимальную продолжительность назначения антибиотиков при бактериальных инфекциях [9–10]. Так, ПКТ при коронавирусной инфекции с поражением респираторных отделов легких, как правило, находится в пределах референсных значений [11–13].

В исследовании G. Zhang с соавт. высокий уровень ПКТ наряду с пожилым возрастом, хроническими сопутствующими заболеваниями и сопутствующей инфекцией увеличивал риск неблагоприятных клинических исходов. Повышение уровня ПКТ было отмечено у 32,1 % пациентов, при этом концентрации в группах тяжелого и нетяжелого течения COVID-19 достоверно различались. В группе пациентов с тяжелым течением COVID-19 у 92,3 % пациентов уровень ПКТ составил > 1 нг/мл. При этом уровни ПКТ не были повышены у большинства пациентов с COVID-19, что указывает на отсутствие необходимости назначения антибиотиков [14].

Таким образом, принципиально важно при ведении пациента с поражением легких при COVID-19 мониторировать как уровень С-реактивного белка, так и ПКТ [2–4]. У них в этой клинической ситуации разные точки приложения — в первом случае анализ активности системного процесса и решение о противовоспалительной терапии, во-втором (ПКТ) — диагностика внутрибольничных бактериальных осложнений, требующих назначения антибиотиков.

Целый ряд работ доказывают, что вторичная инфекция у больных с COVID-19 развивается в 17,6 % [15]. Как правило, это тяжелые пациенты, которым проводится искусственная вентиляция легких. Среднее время до появления вторичных инфекций составляет порядка 17 дней. В мета-анализе 24 исследования, включающего 3338 пациентов, частота бактериальной ко-инфекции на момент обращения за медицинской помощью составила 3,5 %; вторичные бактериальные инфекции осложняли течение COVID-19 у 14,3 % пациентов; в целом пропорция пациентов с бактериальными инфекциями составила 6,9 %; бактериальные инфекции чаще регистрировались у пациентов с тяжелым течением COVID-19 [16]. Но несмотря на это, средняя частота использования антибиотиков, по мнению зарубежных авторов, составляет 74,0 % [15–16].

К сожалению, следует признать, что несмотря на вышеозначенные публикации в России и требования национальных Рекомендаций по ведению больных с COVID-19, в реальной отечественной практике сохраняется крайне высокий уровень применения антибиотиков, достигающий 70–80 %. Помимо очевидного негативного влияния на рост антибиотикорезистентности стоит отметить и крайне высокий риск нежелательных явлений, которые сопутствуют неправильно назначенной антибиотикотерапии, в том числе подавляющее воздействие на микробиоту кишечника, имеющую связь с тяжестью проявлений COVID-19 [17].

Таким образом, назначение антибактериальной терапии пациентам с COVID-19 оправдано только при наличии убедительных признаков бактериальной инфекции — появление гнойной мокроты, повышение ПКТ крови более 0,25–0,5 нг/мл и уровня лейкоцитов крови более 10 тыс/мкл с повышением количества палочкоядерных нейтрофилов более 10 % (необходимо учитывать, что лейкоцитоз может быть обусловлен терапией глюкокортикостероидами, а не бактериальной инфекцией). Перефразируя, можно сказать, что, вероятно, единственным показанием к назначению антибиотиков у больных с COVID-19 является нозокомиальная инфекция. Применение антибиотиков

у пациентов с нозокомиальной пневмонией на фоне течения COVID-19 проводится по общим правилам — с учетом тяжести состояния пациента, преморбидного фона, факторов риска инфекции, вызванной резистентными бактериями, результатов этиологической диагностики и, конечно, на основании результатов микробиологического исследования.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Финансирование данной работы не проводилось.

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

Этическая экспертиза. Исследование не подавалось на рассмотрение этического комитета в связи с тем, что было основано на анализе отечественной и зарубежной литературы, а также собственного опыта диагностики и лечения пациентов с COVID-19.

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ивченко Е.В., Котив Б.Н., Овчинников Д.В., Буценко С.А. Результаты работы научно-исследовательского института проблем новой коронавирусной инфекции Военно-медицинской академии за 2020–2021 гг. // Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2021. Т. 23, № 4. С. 93–104. DOI: 10.17816/bmmar83094
- Зайцев А.А., Чернов С.А., Крюков Е.В., и др. Практический опыт ведения пациентов с новой коронавирусной инфекцией COVID-19 в стационаре (предварительные итоги и рекомендации) // Лечащий врач. 2020. № 6. С. 76–80. DOI: 10.26295/os.2020.41.94.014
- Салухов В.В., Крюков Е.В., Чугунов А.А., и др. Роль и место глюкокортикостероидов в терапии пневмоний, вызванных COVID-19, без гипоксемии // Медицинский Совет. 2021. № 12. С. 162–172. DOI: 10.21518/2079-701X-2021-12-162-172
- Зайцев А.А., Чернов С.А., Стец В.В., и др. Алгоритмы ведения пациентов с новой коронавирусной инфекцией COVID-19 в стационаре. Методические рекомендации // Consilium Medicum. 2020. Т. 22, № 11. С. 91–97. DOI: 10.26442/20751753.2020.11.200520
- Li J., Wang J., Yang Y., et al. Etiology and antimicrobial resistance of secondary bacterial infections in patients hospitalized with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective analysis // Antimicrob. Resist. Infect. Control. 2020. Vol. 9, No. 1. P. 153. DOI: 10.1186/s13756-020-00819-1
- Rawson T.M., Moore L.S.P., Zhu N., et al. Bacterial and fungal co-infection in individuals with coronavirus: a rapid review to support COVID-19 antimicrobial prescribing // Clin. Infect. Dis. 2020. Vol. 71, No. 9. P. 2459–2468. DOI: 10.1093/cid/ciaa530
- De Waele J., Derde L., Bassetti M. Antimicrobial stewardship in ICUs during the COVID-19 pandemic: back to the 90s? // Intensive Care Med. 2021. Vol. 47, No. 1. P. 104–106. DOI: 10.1007/s00134-020-06278-x
- Зайцев А.А., Яковлев С.В., Козлов Р.С., и др. О применении антибактериальной терапии у пациентов с новой коронавирусной инфекцией COVID-19 // Терапевтический архив. 2020. Т. 92, № 11. С. 4.
- Авдеев С.Н., Дехнич А.В., Зайцев А.А., и др. Внебольничная пневмония. Клинические рекомендации РРО и МАКМАХ, 2021. М.: МЗ РФ, 2021. 133 с. Доступно по: <https://spulmo.ru/obrazovatelnye-resursy/federalnye-klinicheskie-rekomendatsii/> Дата доступа 12.06.2022.
- Зайцев А.А., Овчинников Ю.В., Кондратьева Т.В. Анализ клинико-диагностических возможностей инструментов оценки тяжести и прогноза внебольничной пневмонии у пациентов молодого возраста из организованных коллективов // Пульмонология. 2014. № 5. С. 67–72.
- Guan W., Ni Z.Y., Hu Y., et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China // N. Engl. J. Med. 2020. Vol. 382, No. 18. P. 1708–1720. DOI: 10.1056/NEJMoa2002032
- Chen N., Zhou M., Dong X., et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study // Lancet. 2020. Vol. 395, No. 10223. P. 507–513. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7
- Зайцев А.А., Голухова Е.З., Мамалыга М.Л., и др. Эффективность пульс-терапии метилпреднизолоном у пациентов с COVID-19 // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2020. Т. 22, № 2. С. 88–91. DOI: 10.36488/cmhc.2020.2.88-91
- Zhang G., Hu C., Luo L., et al. Clinical features and short-term outcomes of 221 patients with COVID-19 in Wuhan, China // J. Clin. Virol. 2020. Vol. 127, No. 104364. P. 1–8. DOI: 10.1016/j.jcv.2020.104364
- Chedid M., Waked R., Haddad E., et al. Antibiotics in treatment of COVID-19 complications: a review of frequency, indications, and

efficacy // J. Infect. Public. Health. 2021. Vol. 14, No. 5, P. 570–576. DOI: 10.1016/j.jiph.2021.02.001

16. Lansbury L., Lim B., Baskaran V., et al. Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis // J. Infect. 2020. Vol. 81, No. 2. P. 266–275. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.05.046

REFERENCES

1. Ivchenko EV, Kotiv BN, Ovchinnikov DV, Bucenko SA. Results of the work of the Military Medical Academy research institute of novel coronavirus infection problems through 2020–2021. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2021;23(4):93–104. (In Russ.) DOI: 10.17816/brmma83094
2. Zaicev AA, Chernov SA, Kryukov EV, et al. Practical experience of managing patients with new coronavirus infection COVID-19 in hospital (preliminary results and guidelines). *Lechaschi Vrach*. 2020;(2):76–80. (In Russ.) DOI: 10.26295/os.2020.41.94.014
3. Salukhov VV, Kryukov EV, Chugunov AA, et al. The role and place of glucocorticosteroids in treatment of COVID-19 pneumonia without hypoxemia. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*. 2021;(12):162–172. (In Russ.) DOI: 10.21518/2079-701X-2021-12-162-172
4. Zaicev AA, Chernov SA, Stets VV, et al. Algorithms for the management of patients with a new coronavirus COVID-19 infection in a hospital. Guidelines. *Consilium Medicum*. 2020;22(11):91–97. (In Russ.) DOI: 10.26442/20751753.2020.11.200520
5. Li J, Wang J, Yang Y, et al. Etiology and antimicrobial resistance of secondary bacterial infections in patients hospitalized with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective analysis. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2020;9(1):153. DOI: 10.1186/s13756-020-00819-1
6. Rawson TM, Moore LSP, Zhu N, et al. Bacterial and fungal co-infection in individuals with coronavirus: a rapid review to support COVID-19 antimicrobial prescribing. *Clin Infect Dis*. 2020;71(9):2459–2468. DOI: 10.1093/cid/ciaa530
7. De Waele J, Derde L, Bassetti M. Antimicrobial stewardship in ICUs during the COVID-19 pandemic: back to the 90s? *Intensive Care Med*. 2021;47(1):104–106. DOI: 10.1007/s00134-020-06278-x
8. Zaicev AA, Yakovlev SV, Kozlov RS, et al. On the application of antibacterial therapy in patients with a new coronavirus infection COVID-19. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2020;92(11):4. (In Russ.)
9. Avdeev SN, Dekhnich AV, Zajcev AA, et al. *Community-acquired pneumonia. Clinical recommendations RRO and MAKMAKH*, 2021.

17. Козлов К.В., Ратникова А.К., Гриневич В.Б., и др. Микробиота и кишечная проницаемость как драйверы гастроэнтерологических проявлений новой коронавирусной инфекции (COVID-19) // Журнал инфектологии. 2021. Т. 13, № 4. С. 57–65. DOI: 10.22625/2072-6732-2021-13-4-57-65

Moscow: Ministry of Health of the Russian Federation Publishing House; 2021. 133 p. (In Russ.) Available at: <https://spulmo.ru/obrazovatelnye-resursy/federalnye-klinicheskie-rekomendatsii/>

10. Zaicev AA, Ovchinnikov YuV, Kondrat'eva TV. An analysis of diagnostic values of prognostic tools for community-acquired pneumonia in young patients in a closed community. *Pulmonologiya*. 2014;(5):67–72. (In Russ.) DOI: 10.18093/0869-0189-2014-0-5-67-72
11. Guan W, Ni ZY, Hu Y, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020;382(18):1708–1720. DOI: 10.1056/NEJMoa2002032
12. Chen N, Zhou M, Dong X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*. 2020;395(10223):507–513. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7
13. Zaicev AA, Golukhova EZ, Mamalyga ML, et al. Efficacy of methylprednisolone pulse therapy in patients with COVID-19. *Interregional Association for Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2020;22(2):88–91. (In Russ.) DOI: 10.36488/cmacc.2020.2.88-91
14. Zhang G, Hu C, Luo L, et al. Clinical features and short-term outcomes of 221 patients with COVID-19 in Wuhan, China. *J Clin Virol*. 2020;127(104364):1–8. DOI: 10.1016/j.jcv.2020.104364
15. Chedid M, Waked R, Haddad E, et al. Antibiotics in treatment of COVID-19 complications: a review of frequency, indications, and efficacy. *J Infect Public Health*. 2021;14(5):570–576. DOI: 10.1016/j.jiph.2021.02.001
16. Lansbury L, Lim B, Baskaran V, et al. Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *J Infect*. 2020;81(2):266–275. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.05.046
17. Kozlov KV, Ratnikova AK, Grinevich VB, et al. Microbiota and intestinal permeability as drivers of gastroenterological manifestations of new coronavirus infection (COVID-19). *Journal Infectology*. 2021;13(4):57–65 (In Russ.) DOI: 10.22625/2072-6732-2021-13-4-57-65

ОБ АВТОРАХ

Андрей Алексеевич Зайцев, докт. мед. наук, профессор, заслуженный врач РФ, главный пульмонолог, зав. кафедрой пульмонологии (с курсом аллергологии); ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0934-7313>; eLibrary SPIN: 6549-5154; Author ID: 217005; e-mail: a-zaicev@yandex.ru

***Андрей Михайлович Макаревич**, канд. мед. наук, зав. пульмонологическим отделением; адрес: Россия, 680028, г. Хабаровск, ул. Серышева, д. 1; eLibrary SPIN: 6640-1971; Author ID: 833938; e-mail: makar-kha@yandex.ru

AUTHORS' INFO

Andrey A. Zaicev, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, Honored Doctor of the Russian Federation, Chief Pulmonologist, the Head of the Pulmonology (with a course in Allergology) Department; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0934-7313>; eLibrary SPIN: 6549-5154; Author ID: 217005; e-mail: a-zaicev@yandex.ru

***Andrey M. Makarevich**, M.D., Ph.D. (Medicine), Head of Pulmonary Department; address: 1, Serysheva str., Khabarovsk, 680028, Russia; eLibrary SPIN: 6640-1971; Author ID: 833938; e-mail: makar-kha@yandex.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author