

СОВРЕМЕННЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ В БИОМЕДИЦИНЕ

2025 • $\frac{\text{ТОМ}}{\text{VOL.}}$ 1 • №1

ADVANCED TARGETS IN BIOMEDICINE



СОВРЕМЕННЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ В БИОМЕДИЦИНЕ

2025 • $\frac{\text{TOM}}{\text{VOL.}}$ 1 • №1

ADVANCED TARGETS IN BIOMEDICINE

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Л. С. Литвинова, д-р мед. наук, проф., директор Центра иммунологии и клеточных биотехнологий, БФУ им. И. Канта — главный редактор (Калининград, Россия)
(AuthorID Scopus: 7007068521, <https://orcid.org/0000-0001-5231-6910>, ResearcherID: A-9672-2014)

Д. Аточин, д-р наук (биомедицина), Гарвардская медицинская школа (Бостон, США)
(AuthorID Scopus: 6603545685, <https://orcid.org/0000-0002-2405-2070>)

А. Г. Гончаров, канд. мед. наук, доц., ст. науч. сотр. Центра иммунологии и клеточных биотехнологий, БФУ им. И. Канта (Калининград, Россия)
(AuthorID Scopus: 57196504924; <https://orcid.org/0000-0001-6967-8838>)

И. Н. Лаврик, д-р наук (естественные науки), проф.,
Университет им. Отто фон Герике (Магдебург, Германия)
(AuthorID Scopus: 6603297587; <https://orcid.org/0000-0002-9324-309X>; ResearcherID: C-1700-2009)

С. Новицкий, д-р наук (биомедицина), ведущ. науч. сотр., отделение онкологии,
Amgen Inc. (Южный Сан Франциско, США)
(AuthorID Scopus: 17344280000; ResearcherID: DJI-2306-2022)

М. Ю. Маслов, д-р мед. наук, ведущ. науч. сотр., отделение болезней сердечно-сосудистой системы и метаболизма, Novartis Pharmaceuticals (Кеймбридж, США)
(AuthorID Scopus: 7003427081; ResearcherID: HIY-8525-2022)

А. Дарискас, д-р наук (биомедицина), Институт онкологии,
Вильнюсский университет (Вильнюс, Литва)
(AuthorID Scopus: 8283876800; ResearcherID: HIY-8525-2022)

Г. Б. Сухоруков, канд. физ.-мат. наук, проф.,
Сколковский институт науки и технологий (Москва, Россия)
(AuthorID Scopus: 7006255547; ResearcherID: J-8338-2013)

Ю. Л. Орлов, д-р биол. наук, проф., Институт цифрового биодизайна и моделирования живых систем,
Первый московский государственный медицинский университет
им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет) (Москва, Россия)
(AuthorID Scopus: 7102256498, <https://orcid.org/0000-0003-0587-1609>, ResearcherID: F-1520-2013)

И. А. Хлусов, д-р мед. наук, проф., рук. Лаборатории клеточных и микрофлюидных технологий, Сибирский государственный медицинский университет (Томск, Россия)
(AuthorID Scopus: 7004826401; <https://orcid.org/0000-0003-3465-8452>, ResearcherID: A-4945-2014)

К. А. Юрова, д-р мед. наук, ст. науч. сотр., Центр иммунологии
и клеточных биотехнологий, БФУ им. И. Канта (Калининград, Россия)
(AuthorID Scopus: 56520441800, <https://orcid.org/0000-0001-6146-3330>, ResearcherID: F-7614-2017)

П. В. Федурев, канд. биол. наук, доц., Институт медицины и наук о жизни,
БФУ им. И. Канта (Калининград, Россия)
(AuthorID Scopus: 56663288700, <https://orcid.org/0000-0002-7577-6132>, ResearcherID: T-3035-2018)

В. В. Рафальский, д-р мед. наук, проф., Институт медицины и наук о жизни,
БФУ им. И. Канта (Калининград, Россия)
(AuthorID Scopus: 15023010400, <https://orcid.org/0000-0002-2503-9580>, ResearcherID: G-3172-2013)

Р. В. Деев, канд. мед. наук, доц., первый заместитель директора НИИ морфологии человека
им. акад. А. П. Авцына ФГБНУ РНЦХ им. акад. Б. В. Петровского, руководитель Лаборатории
морфологии и патологии опорно-двигательного аппарата, заведующий кафедрой гистологии
Медицинского университета Петровского (Москва, Россия)
(AuthorID Scopus: 58898845100, <https://orcid.org/0000-0001-8389-3841>, ResearcherID: L-1658-2015)

Учредитель

Балтийский федеральный университет им. И. Канта

Редакция

236016, Россия, Калининград, ул. А. Невского, д. 14

Издатель

236016, Россия, Калининград, ул. А. Невского, д. 14

Журнал издаётся с 2025 г. Периодичность: 2 выпуска в год.
Индексируется в РИНЦ.

EDITORIAL BOARD

Prof. Larisa S. Litvinova, Dr. habil. (Medicine), Director of the Center for Immunology and Cellular Biotechnologies, Immanuel Kant Baltic Federal University, Russia — Editor-in-chief
(AuthorID Scopus: 7007068521, <https://orcid.org/0000-0001-5231-6910>, ResearcherID: A-9672-2014)

Prof. Dmitriy Atochin, Dr. habil. (Biomedicine),
Assistant Professor, Harvard Medical School, USA
(AuthorID Scopus: 6603545685, <https://orcid.org/0000-0002-2405-2070>)

Prof. Andrei G. Goncharov, Ph.D. (Medicine), Senior Researcher, Center for Immunology and Cellular Biotechnology, Immanuel Kant Baltic Federal University, Russia
(AuthorID Scopus: 57196504924; <https://orcid.org/0000-0001-6967-8838>)

Prof. Inna Lavrik, Dr. habil. (Natural Sciences),
Otto von Guericke University Magdeburg, Germany
(AuthorID Scopus: 6603297587; <https://orcid.org/0000-0002-9324-309X>; ResearcherID: C-1700-2009)

Sergey V. Novitskiy, Dr. habil. (Biomedicine),
Principal Scientist, Oncology Department, Amgen Inc., USA
(AuthorID Scopus: 17344280000; ResearcherID: DJI-2306-2022)

Mikhail Maslov, Dr. habil. (Medicine), Principal Scientist, Novartis Pharmaceuticals, USA
(AuthorID Scopus: 7003427081; ResearcherID: HIY-8525-2022)

Adas Darinskas, Dr. habil. (Biomedicine), Institute of Oncology, Vilnius University, Lithuania
(AuthorID Scopus: 8283876800; ResearcherID: HIY-8525-2022)

Prof. Gleb B. Sukhorukov, Ph.D. (Physics, Mathematics),
Skolkovo Institute of Science and Technology, Russia
(AuthorID Scopus: 7006255547; ResearcherID: J-8338-2013)

Prof. Yuriy L. Orlov, Dr. habil. (Biology), Institute of Digital Design and Simulation of Living Systems, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Russia
(AuthorID Scopus: 7102256498, <https://orcid.org/0000-0003-0587-1609>, ResearcherID: F-1520-2013)

Prof. Igor A. Khlusov, M.D., Dr. habil. (Medicine), Head of the Laboratory of Cellular and Microfluidic Technologies, Siberian State Medical University, Russia
(AuthorID Scopus: 7004826401; <https://orcid.org/0000-0003-3465-8452>, ResearcherID: A-4945-2014)

Kristina A. Yurova, Dr. habil. (Medicine), Senior Researcher, Center for Immunology and Cellular Biotechnology, Immanuel Kant Baltic Federal University, Russia
(AuthorID Scopus: 56520441800, <https://orcid.org/0000-0001-6146-3330>, ResearcherID: F-7614-2017)

Pavel V. Feduraev, Ph.D. (Biology), Associate Professor, Institute of Medicine and Life Sciences, Immanuel Kant Baltic Federal University, Russia
(AuthorID Scopus: 56663288700, <https://orcid.org/0000-0002-7577-6132>, ResearcherID: T-3035-2018)

Prof. Vladimir V. Rafalskiy, Dr. habil. (Medicine), Institute of Medicine and Life Sciences, Immanuel Kant Baltic Federal University, Russia
(AuthorID Scopus: 15023010400, <https://orcid.org/0000-0002-2503-9580>, ResearcherID: G-3172-2013)

Prof. Roman V. Deev, M.D., Ph.D (Medicine), First Deputy Director of the A. P. Avtsyn Human Morphology Research Institute, of the FSBS B. V. Petrovsky Russian Scientific Center of Surgery, Head of the Laboratory of Morphology and Pathology of the Musculoskeletal System, Head of the Department of Histology, Petrovsky Medical University, Russia
(AuthorID Scopus: 58898845100, <https://orcid.org/0000-0001-8389-3841>, ResearcherID: L-1658-2015)

Founders

Immanuel Kant Baltic Federal University

Address

14 A. Nevskogo St., Kaliningrad, Russia, 236016

Editorial Office

14 A. Nevskogo St., Kaliningrad, Russia, 236016

The journal has been published since 2025. Publication frequency: 2 issues per year.
Indexed in the Russian Science Citation Index.

СОДЕРЖАНИЕ

Насибов Т. Ф., Горохова А. В., Бразовский К. С., Порохова Е. Д., Авдеева Е. Ю., Белоусов М. В., Хлусов И. А. Алгоритм <i>in silico</i> прогнозирования генов-мишеней и целевых метаболических путей для малых биомолекул на примере хелидоновой кислоты	6
Долгих М. Д., Бочкова М. С., Тимганова В. П., Заморина С. А. Оценка влияния наночастиц оксида графена на клетки линии MCF-7 под действием БИК-облучения	20
Лямцева А. К., Костюк С. А., Полуян О. С. Определение роли условно-патогенных микроорганизмов <i>Staphylococcus spp.</i> , <i>Streptococcus spp.</i> и <i>Enterobacteriaceae</i> в этиологии перипротезной инфекции после эндопротезирования крупных суставов	31
Колодкин А. Как сделать данные находимыми, доступными, взаимно совместимыми, переиспользуемыми, а также эмерджентными (FAIRE): Предложения по использованию модельно-ориентированной интеграции данных (SOMEDAI) в системно-биологической подготовке к следующим эпидемиям	51
Мосунов А. А. Иммунологические особенности постковидного синдрома, ассоциированного с цитомегаловирусной инфекцией: роль нейтрофилов и системы комплемента	65
Чумакова С. П., Денисенко О. А., Уразова О. И., Шипулин В. М., Андреев С. Л., Топоркова А. К., Литвинова Л. С. Патогенетические факторы ишемической кардиомиопатии: результаты многомерного факторного анализа	74

CONTENTS

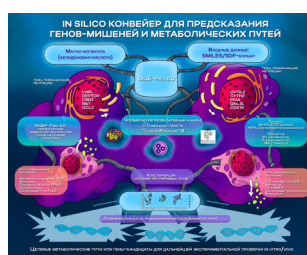
<i>Nasibov T. F., Gorokhova A. V., Brazovsky K. S., Porokhova E. D., Avdeeva E. Yu., Belousov M. V., Khlusov I. A.</i> The pipeline for <i>in silico</i> prediction of target genes and target metabolic pathways for small molecules, using chelidonic acid as an example	6
<i>Dolgikh M. D., Bochkova M. S., Timganova V. P., Zamorina S. A.</i> Evaluation of the effects of graphene oxide nanoparticles on MCF-7 cells under NIR irradiation	20
<i>Lyamtseva A. K., Kostiuk S. A., Poluyan O. S.</i> Determination of the role of opportunistic microorganisms <i>Staphylococcus spp.</i> , <i>Streptococcus spp.</i> and <i>Enterobacteriaceae</i> in the etiology of periprosthetic infection after endoprosthetics of large joints	31
<i>Kolodkin A.</i> Making data Findable, Accessible, Interoperable, Reusable and Emergeable (FAIRE): Proposing a Silicon Organism Model-Engrossed Data Integration (SOMEDAI) approach in Systems Biological preparations for the next epidemics	51
<i>Mosunov A. A.</i> Immunological Features of Post-COVID Syndrome Associated with Cytomegalovirus Infection: The Role of Neutrophils and the Complement System.....	65
<i>Chumakova S. P., Denisenko O. A., Urazova O. I., Shipulin V. M., Andreev S. L., Toporkova A. K., Litvinova L. S.</i> Pathogenetic factors of ischaemic cardiomyopathy: results of multivariate factor analysis	74



Methodology article

THE PIPELINE FOR *IN SILICO* PREDICTION OF TARGET GENES AND TARGET METABOLIC PATHWAYS FOR SMALL MOLECULES, USING CHELIDONIC ACID AS AN EXAMPLE

T. F. Nasibov¹, A. V. Gorokhova¹, K. S. Brazovsky²
E. D. Porokhova¹, E. Yu. Avdeeva³
M. V. Belousov³, I. A. Khlusov^{1, 4,*}



¹ Department of Morphology and General Pathology,
Siberian State Medical University,
634050, Tomsk, Russia

² Department of Medical and Biological Cybernetics,
Siberian State Medical University,
634050, Tomsk, Russia

³ Department of Pharmaceutical Analysis,
Siberian State Medical University,
634050, Tomsk, Russia

⁴ Laboratory of Cellular and Microfluidic Technologies,
Siberian State Medical University,
634050, Tomsk, Russia

* Correspondence: khlusov.ia@ssmu.ru

To cite this article:

Nasibov T. F., Gorokhova A. V.,
Brazovsky K. S., Porokhova E. D.,
Avdeeva E. Yu., Belousov M. V.,
Khkusov I. A. The pipeline for *in silico*
prediction of target genes and target
metabolic pathways for small mole-
cules, using chelidonic acid as an ex-
ample. *Advanced targets in Biomedicine*.
2025;1(1):06–19.
<https://doi.org/10.5922/ATB-2025-1-1-1>

Received
23.04.2025
Revised
04.06.2025
Accepted
05.06.2025
Published
15.07.2025

© Nasibov T. F., Gorokhova A. V.,
Brazovsky K. S., Porokhova E. D.,
Avdeeva E. Yu., Belousov M. V.,
Khkusov I. A., 2025

Abstract: Modern pharmaceutical science is undergoing significant changes due to the active integration of computer technologies into the drug development process. Prior to the conventional stages of synthesis and experimental testing, researchers are increasingly turning to *in silico* methods, which enable the simulation of the structure and pharmacological effects of chemical compounds with a high degree of predictive accuracy. This approach significantly saves time and financial resources, optimizing subsequent experimental studies. In parallel, there is an active development of epigenome-targeted therapy, a new approach that allows for the modulation of gene expression involved in pathological processes without directly altering the primary DNA structure. Using chelidonic acid as a case study, we present a pipeline for computer-based assessment of small molecule effects on gene expression and metabolic pathways. The algorithm is based on the use of the DIGEP-Pred 2.0 web service, followed by multilevel bioinformatics analysis, including: (1) gene over-representation analysis; (2) assessing the involvement of metabolic pathways; (3) functional clustering of pathways. The proposed approach can help solve problems in both fundamental and applied research on the molecular mechanisms of drug action.

Keywords: bioinformatics, computer simulation, intracellular events, molecular targets, methodic aspects



Методологическая статья

АЛГОРИТМ *IN SILICO* ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ГЕНОВ-МИШЕНЕЙ И ЦЕЛЕВЫХ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПУТЕЙ ДЛЯ МАЛЫХ БИОМОЛЕКУЛ НА ПРИМЕРЕ ХЕЛИДОНОВОЙ КИСЛОТЫ

Т. Ф. Насибов¹, А. В. Горохова¹, К. С. Бразовский²
Е. Д. Порохова¹, Е. Ю. Авдеева³,
М. В. Белоусов³, И. А. Хлусов^{1, 4,*}

¹ Кафедра морфологии и общей патологии,
Сибирский государственный медицинский университет,
634050, Россия, Томск

² Кафедра медицинской и биологической кибернетики,
Сибирский государственный медицинский университет,
634050, Россия, Томск

³ Кафедра фармацевтического анализа,
Сибирский государственный медицинский университет,
634050, Россия, Томск

⁴ Лаборатория клеточных и микрофлюидных технологий,
Сибирский государственный медицинский университет,
634050, Россия, Томск

* Автор-корреспондент: khlusov.ia@ssmu.ru

Для цитирования:

Насибов Т. Ф., Горохова А. В.,
Бразовский К. С., Порохова Е. Д.,
Авдеева Е. Ю., Белоусов М. В.,
Хлусов И. А. Алгоритм *in silico*
прогнозирования генов-мишеней
и целевых метаболических путей
для малых биомолекул на примере
хелидоновой кислоты. *Современные
направления в биомедицине*.
2025;1(1):06–19.
<https://doi.org/10.5922/ATB-2025-1-1-1>

Поступила
23.04.2025 г.
Прошла рецензирование
04.06.2025 г.
Принята к печати
05.06.2025 г.
Опубликована
15.07.2025 г.

© Насибов Т. Ф., Горохова А. В.,
Бразовский К. С., Порохова Е. Д.,
Авдеева Е. Ю., Белоусов М. В.,
Хлусов И. А., 2025

Резюме: Современная фармацевтическая наука претерпевает значительные изменения благодаря активному внедрению компьютерных технологий в процесс разработки лекарственных средств. Перед традиционными этапами синтеза и экспериментальной проверки исследователи все чаще применяют *in silico* подходы, позволяющие с высокой точностью моделировать структуру и фармакологические эффекты химических соединений. Такой подход обеспечивает значительную экономию временных и финансовых ресурсов, оптимизируя последующие экспериментальные исследования. Параллельно с этим наблюдается активное развитие эпигеном-направленной терапии — нового подхода, позволяющего модулировать экспрессию генов, вовлеченных в патологические процессы, без прямого воздействия на первичную структуру ДНК. В данной работе на примере хелидоновой кислоты представлен комплексный алгоритм оценки влияния малых молекул на экспрессию генов и метаболических путей. Методика основана на использовании веб-сервиса DIGEP-Pred 2.0 с последующим многоуровневым биоинформатическим анализом, включающим: (1) анализ избыточной репрезентативности генов; (2) оценку вовлеченности метаболических путей; (3) их функциональную кластеризацию. Предлагаемый подход способствует решению задач как для фундаментальных, так и для прикладных исследований механизмов действия лекарственных веществ.

Ключевые слова: биоинформатика, компьютерное моделирование, внутриклеточные процессы, молекулярные мишени, методические аспекты

Background and the Theory

Pharmaceutical research and development are expensive, time-consuming, and risky processes [1]. The process of targeted drug synthesis is challenging due to limited knowledge of many molecular targets, as well as the high cost of researching their structures and ligands [2]. *In silico* technologies have become essential in the modern pharmaceutical industry, as they can significantly reduce the time and resources required for drug development [3]. These technologies include predictive data analysis, building models with specified properties, and virtual screening of large chemical libraries in order to find effective drug candidates, making it possible to solve many problems of modern pharmacy [4]. Thus, more and more scholarly attention is now focused on the strategy of computer-aided drug design (CADD), which includes computational identification of potential drug targets [5], virtual screening of large chemical libraries to identify effective drug candidates [6], and further optimization of candidate compounds and computational assessment of their potential toxicity [7]. Following these computational processes, candidate compounds undergo *in vitro/vivo* experiments for confirmation [8]. Therefore, in contrast to the traditional approach, which involves the expensive synthesis of numerous compounds followed by their experimental testing for biological activity, selectivity, and toxicity [9], CADD methods can significantly reduce the number of compounds tested and increase the chances of success by eliminating ineffective and toxic substances first. Virtual screening, for instance, has been shown to increase efficiency (defined as the number of compounds that bind at a given concentration divided by the number of compounds tested experimentally) by approximately 100–1000 times when compared to random screening [10].

In the modern pharmaceutical industry, there is a growing interest in developing drugs targeting genes involved in pathological metabolic pathways [11]. This approach, known as epigenome-directed or epigenetic therapy [12; 13], aims to modulate gene expression without altering the DNA sequence. Epigenetic therapies involve the use of drugs that selectively affect the activity of specific genes, leading to changes in their expression [14]. These drugs can be used to treat a variety of diseases, including cancer and metabolic disorders. Currently, predicting changes in gene expression under the influence of a particular compound without the use of computer technology is impossible [15; 16]. An important tool in the creation of new drugs has become the assessment of structural similarity based on the principle that similar molecules have similar biological activity [17]. The first tool to predict the biological activity of compounds based on their structure is the PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) computer program [18]. The training set for this program consists of information on the structures and biological activities of compounds obtained from large experimental databases such as ChEMBL, PubChem and PASS, which together contain more than 300 million records. The prediction accuracy of PASS exceeds 0.96 for over 5,000 different types of biological activities [19]. In order to predict gene expression profiles, the DIGEP-Pred (Prediction of drug-induced changes in gene expression profile) program was developed [20].

The DIGEP-Pred 2.0 web service allows the users to model *in silico* the effect of substances on gene expression profiles based on their molecular structure [21]. To make predictions, the service uses literary data from the Comparative Toxicogenomics Database (CTD) as well as experimental data obtained from microarray analysis of the MCF7, PC3, and HL60 cell lines. The accuracy of the predictions reaches 86.5 % for models trained on the CTD and over 87 % for those based on experimental data [21]. The prediction results are presented as three key parameters for each gene: the probability of being active (Pa), reflecting the similarity of the molecule to known active compounds in the PASS training set; the probability of being inactive (Pi), showing the structure resemblance to inactive compounds in the same set; and the invariant

prediction accuracy (IAP), obtained through the leave-one-out cross-validation (LOO CV) procedure and numerically equal to the AUC value of the ROC curve. LOO CV is used to assess the robustness of the model on the full PASS training set.

Technical requirements

The DIGEP-Pred 2.0 web service does not require local installation and is available online (<https://www.way2drug.com/digep-pred/>). The R programming language (version 4.5.0), distributed under the GNU GPL v2 license (<https://www.gnu.org/licenses/old-licenses/gpl-2.0.en.html>), was used for data processing. The minimum system requirements and installation instructions for working with R can be found on the official product page (<https://www.r-project.org/>). To ensure proper operation of the used packages, it is recommended to use the 64-bit version of R. Bioinformatics analysis was performed using the following R packages: “clusterProfiler” [22–25], “DOSE” [26], “AnnotationDbi” [27], “org.Hs.eg.db” [28], “KEGGREST” [29], “GO.db” [30], “rWikiPathways” [31]. All packages were installed via Bioconductor version 3.21.0. Basic R “graphics” and “ggplot2” were used for general data visualization, as well as the specialized “RCy3” package [32] for more advanced graphics.

Description of the Pipeline

The first step is to obtain a small molecule structure file. There are several restrictions to consider for the molecule, including electrical neutrality, consisting of a single component, the presence of covalent bonds only, and a maximum molecular weight of 1,250 atomic mass units; for a complete list of requirements, please see publication [19]. If there is *a priori* information about the compound under study, it is recommended to search in the open chemical databases such as PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) and ChEMBL (<https://www.ebi.ac.uk/chembl/>). From these databases, you can download the 2D structure in SDF format or a SMILES (simplified molecular input line entry system) line. If the substance is new or the information is not available from the previously mentioned databases, researchers need to depict the structure themselves using the DIGEP-Pred 2.0 web service. Since chelidonic acid (ChA) has a known chemical structure, a search in PubChem revealed the SMILES string C1=C(OC(=CC1=O)C(=O)O)C(=O)O.

The next step is to use DIGEP-Pred 2.0, allowing the researcher to obtain a list of genes that may change their expression under the effect of the studied compound. However, it is important to remember that DIGEP-Pred 2.0 does not provide information about the causes of these changes. In addition to the compound being studied, DIGEP-Pred 2.0 requires other input parameters such as (1) the dataset used to train the model, (2) the threshold of Pa values, and (3) the direction of expression changes (Up/Down). The choice of the first parameter (dataset) is crucial and depends on the study design and the intended methods for verifying the results *in vitro/vivo*. The model creators provide the option to use both long-term literature data from the CTD or experimental data from three cell lines: MCF7, PC3, and HL60. When studying the general effects of a test substance, the CTD_mRNA or CTD_protein training sets from the literature are recommended, as they offer extensive gene output data. However, experimental validation may be challenging given the data's generalization across diverse cell lines. At the same time, using experimental training data can solve this problem, but the resulting list of genes will be significantly smaller compared to the literature sets. It is also worth noting that experimental sets are divided by logarithmic (base 2) fold change in gene expression (LFC). To identify all genes with modulated expression, run the simulation for each LFC value (0.5, 0.7, 1, 1.5, and 2). For clarity, Table 1 provides an example.

Table 1

Comparison of simulation results using different training data sets

Dataset name	Number of genes obtained by modeling the effects of ChA
CTD_mRNA	9,151
CTD_protein	2,133
cMAP_HL60 (LFC 0.5 + 0.7 + 1 + 1.5 + 2)	3,871 (1,809 + 1,194 + 589 + 193 + 86)
cMAP_MCF7 (LFC 0.5 + 0.7 + 1 + 1.5 + 2)	1,603 (762 + 497 + 237 + 72 + 35)
cMAP_PC3 (LFC 0.5 + 0.7 + 1 + 1.5 + 2)	895 (396 + 275 + 133 + 54 + 37)

Note: The remaining input parameters were kept constant for all simulations: the lower limit of the values was $P_a > P_i$, and the direction of regulation was Up.

The choice of the lower limit for the P_a value directly affects the number of results obtained. A higher threshold increases the likelihood of detecting the test substance's activity in relation to the identified genes, but it also reduces the number of genes selected. The authors of the model propose two approaches for choosing the lower limit value [18]. For initial modeling, it is reasonable to use the value $P_a > P_i$. For further analysis, either of the two proposed approaches can be applied. The direction of expression changes determines which genes are included in the list: the expression of those increases or decreases under the influence of the substance.

For a complete analysis, both lists are needed. In this study, the input parameters as follows were used: training dataset CTD_mRNA, thresholds $P_a > P_i$ and $P_a > 0.4$ [18], and both directions of expression change — Up and Down. As a result of the *in silico* prediction of the gene expression assessment under the influence of ChA, a list of genes with corresponding expression directions (over- or under-expression), activity values (P_a), inactivity values (P_i), and the prediction accuracy score (IAP value) was obtained. This resulted in 9,151 over-expressed genes and 9,207 under-expressed genes, with approximately 5,000 genes present in both lists. The authors of the model do not describe the process for dealing with the bidirectional influence of a substance on the expression of the same gene, so we introduced a weighted coefficient (CA) calculated using the formula: $CA = P_a * IAP$. The CAs for the same genes in each list were compared, and the gene with the lowest CA value was removed from the corresponding list. This resulted in the reduced up-list of 6,309 genes and the down-list of 7,023 genes. Due to the large number of genes involved in the analysis and the difficulty in assessing the effects of over- or under-expression of a single gene in isolation from others, we did not perform a detailed analysis of each individual gene. However, a detailed analysis of individual genes can be carried out if required by the specific objectives of the study.

Gene set enrichment analysis (GSEA) and over-representation analysis (ORA) are two commonly used methods for grouping genes into metabolic pathways. GSEA uses *a priori* sets of genes that are grouped based on their involvement in the same biological process. It then determines whether genes from this functional set are clustered at the top (over-expression) or bottom (under-expression) of a ranked gene list. Meanwhile, ORA tests whether genes from a certain set (such as a biological pathway) are represented in this list more often than expected by chance.

Owing to the lack of information on the degree of gene expression change, we opted for ORA. In ORA, genes were grouped according to a metabolic pathway or common gene ontology in which their products are involved. The statistical significance of their association of a particular group of genes was then assessed using Fisher's exact test. The list of possible metabolic pathways was obtained from the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) and WikiPathways databases. The gene ontology was obtained from the Gene Ontology database (GO). A simple and easy-

to-use ORA is presented in the “clusterProfiler” package [22–25], which contains several functions for performing ORA in each database (“enrichKEGG()”, “enrichWP()”, “enrichGO()”). The researchers can find a full description of these functions in the documentation at <https://www.bioconductor.org/packages/release/bioc/manuals/enrichplot/man/enrichplot.pdf>. As a result, a table was generated for each database containing the following information: the metabolic pathway identifier, its short name, a list of gene products involved in the pathway, their number, and significance estimates — p.adjust and q-value. The p.adjust represents a p-value adjusted using the Benjamini–Hochberg procedure, which determines the expected proportion of false positive results (FDR) among all positive (significant) ones. In turn, the q-value determines the minimum FDR when a result is considered significant. While the choice of the significance estimation ultimately rests with the researcher, we would like to note that p.adjust is a more rigorous estimate, and q-value has higher statistical power. Our study was a pilot one, and therefore, it was preferable to obtain as many candidate pathways with the best metrics as possible for further investigation. With this in mind, we chose to use the q-value. The number of significant (q-value < 0.05) pathways and ontologies are given in Table 2.

Table 2

The number of significant (q-value < 0.05) metabolic pathways / ontologies identified during ORA in different databases

Gene expression directions	Database		
	GO	KEGG	WikiPathways
Up	1,016	53	2
Down	1,258	86	48

One can notice a large variability in the number of pathways / ontologies obtained. For researchers without relevant experience, the gold standard is KEGG, as it is regularly updated and has strict data moderation. We recommend using GO when functional annotation of genes is required, and WikiPathways when more detailed or new information not present in KEGG is needed. Thus, manual assessment of pathways from KEGG and WikiPathways seems quite feasible under conditions of limited human and time resources, without considering gene ontologies.

The next step could be to explore possible metabolic pathways associated with the *a priori* target effects, if such effects are present. In our case, such an effect may be the stimulation of osteogenesis. This possibility was previously demonstrated by our team in [33; 34]. As a result of ORA, the up-regulated genes were combined into eight significant (q-value < 0.05) metabolic pathways related to osteogenesis, while the down-regulated genes were combined into four metabolic pathways (Table 3).

Table 3

Metabolic pathways obtained by ORA for ChA target genes

Pathway / Ontology ID	Name	Genes count	Pa values of genes included in the pathway (Me (Q_1 ; Q_3))
<i>The overexpressed genes (Up-regulation)</i>			
GO:0097553	Ca ²⁺ ion transmembrane import into cytosol	66	0.72 (0.65; 0.82)
GO:0030282	Bone mineralization	47	0.72 (0.65; 0.79)

The end of Table 3

Pathway / Ontology ID	Name	Genes count	Pa values of genes included in the pathway (Me (Q_1 ; Q_3))
GO:0045667	Regulation of osteoblast differentiation	55	0.75 (0.67; 0.82)
GO:0009612	Response to mechanical stimulus	77	0.70 (0.63; 0.75)
GO:0030198	Extracellular matrix organization	116	0.70 (0.62; 0.78)
hsa04064	NF-kappa B signaling pathway	42	0.71 (0.64; 0.81)
hsa04310	Wnt signaling pathway	63	0.77 (0.70; 0.82)
WP4141	Vitamin D3 signaling	16	0.75 (0.62; 0.83)
<i>The underexpressed genes (Down-regulation)</i>			
GO:0030178	Negative regulation of Wnt signaling pathway	75	0.78 (0.68; 0.83)
hsa04010	MAPK signaling pathway	132	0.75 (0.66; 0.84)
hsa04668	TNF signaling pathway	61	0.74 (0.64; 0.83)
WP4787	Osteoblast differentiation and related diseases	59	0.80 (0.68; 0.86)

Therefore, a number of metabolic pathways and ontologies containing candidate genes were obtained for further experimental verification *in vitro* / *vivo*. The presented algorithm is effective in the targeted search for metabolic pathways associated with specific biological processes.

In cases when the researcher does not know in advance what processes the substance under study may affect, we propose to first assess the overall direction of the effects by clustering all the identified metabolic pathways into larger modules. This procedure is particularly relevant when dealing with a large number of identified pathways and ontologies. The set of tools necessary to solve problems like this is included in the “clusterProfiler” package [22–25] for the R programming language. To illustrate this approach, we used the previously obtained gene ontology sets. The ontologies in each list were grouped using the “pairwise_termsim()” function (a detailed description of the parameters can be found at <https://www.bioconductor.org/packages/release/bioc/manuals/enrichplot/man/enrichplot.pdf>), based on the determination of pairwise semantic similarity to find the most informative common ancestor in the ontology hierarchy for each pair of terms.

Clustering was performed using the Partitioning Around Medoids (PAM) algorithm, based on the definition of k-medoids. This classical clustering method partitions a dataset into k clusters, where k is assumed to be known *a priori*. The cluster median is the object in the cluster with the smallest sum of distances to all other objects in the same cluster, making it the most central point within the cluster [35]. Unlike the k-means, the k-medoids only selects existing data points as centers, providing a clearer interpretation of cluster centers compared to k-means, where the cluster center may not be one of the original data points, but rather the average of the points within the cluster. Additionally, the k-medoids algorithm can be used with arbitrary dissimilarity measures, whereas the k-means algorithm typically requires Euclidean distance [36]. The k-medoids approach minimizes the sum of pairwise differences between data points instead of the sum of squared distances, making it more robust to noise and outliers than the k-means approach [37].

Clustering and visualization of the results is implemented in the “emapplot()” function (detailed description can be found at <https://www.bioconductor.org/packages/release/bioc/manuals/enrichplot/man/enrichplot.pdf>), which also creates a network enrichment map. This graph combines ontologies, represented as nodes, into a

network with edges connecting overlapping sets of genes. Thus, intersecting sets of genes tend to be grouped together, making it easier to identify functional modules. The color of a node reflects the statistical significance of the enrichment, and the size of the node represents the number of genes associated with each term. This allows us to quickly identify important or highly enriched terms. Figure 1 presents the clustering results for the 45 most significant (q -value < 0.05) gene ontologies of the up-list (Fig. 1, *a*) and all 1,016 significant (q -value < 0.05) ontologies (Fig. 1, *b*) from this list. A closer examination of the first 45 ontologies (Fig. 1, *a*) reveals that the “ossification” ontology, which means bone tissue formation, bone matrix mineralization and etc. in GO terms, is included in the cluster of the canonical NF- κ B metabolic pathway (blue oval, Figure 1, *a*). This indirectly confirms our selection in Table 3. The study of all significant (q -value < 0.05) ontologies (Fig. 1, *b*) is primarily necessary for identifying the general directions of the molecule’s action. Therefore, listing all ontologies in this case is unnecessary.

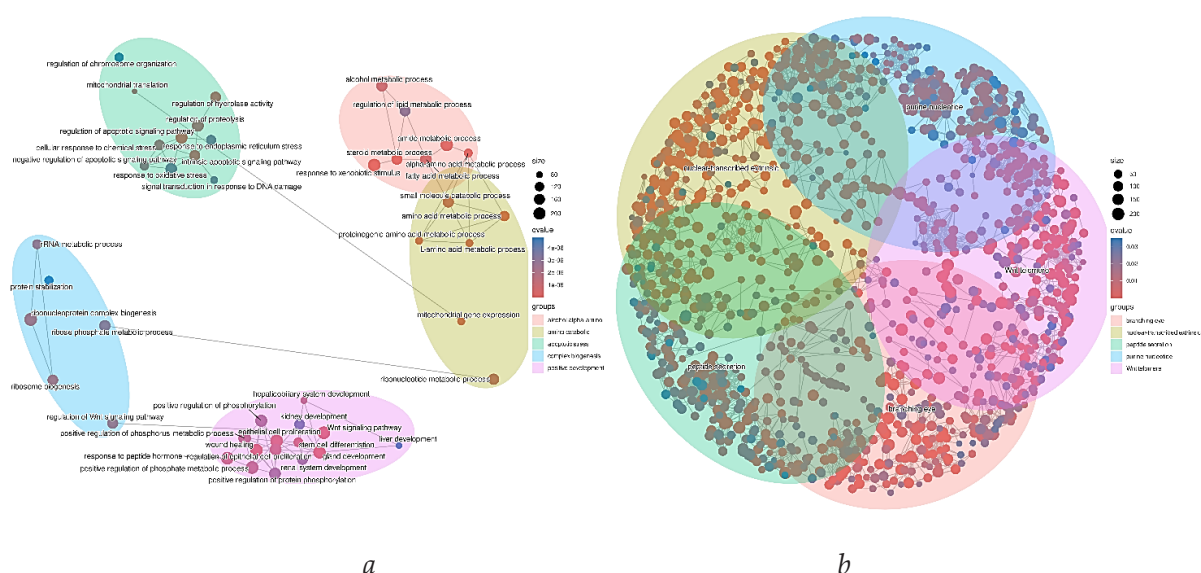


Fig. 1. The example of clustering of significant (q -value < 0.05) up-list gene ontologies: the first 45 (*a*) and all 1,016 (*b*)

Similarly, Figure 2 shows the clusters for the 45 most significant (q -value < 0.05) ontologies of the down-list (Fig. 2, *a*) and all 1,258 significant (q -value < 0.05) ontologies of the corresponding list (Fig. 2, *b*).

At the same time, it should be noted that as the number of ontologies considered for the two lists increases, the patterns of cluster arrangement in the space of semantic similarity coefficient values are preserved. This could indicate the appropriate use of the “emaplot()” function’s parameters.

In addition to clustering, the “clusterProfiler” package allows you to explore the possible hierarchy of the obtained ontologies. For this purpose, the “treeplot()” function is provided, which enables the creation of a tree-like graph of semantic similarity (Fig. 3). Researchers can find a detailed description of this function at (<https://www.bioconductor.org/packages/release/bioc/manuals/enrichplot/man/enrichplot.pdf>). As a result, “treeplot()” creates a graph where each path is represented by a node, and parent-child relationships between terms are indicated by connecting lines. Similar to a network map, the size of each node depends on the number of genes included in the ontology, while the color indicates the statistical significance of gene enrichment within the ontology. In our example, the output of “treeplot()” for the 45 most

significant (q -value < 0.05) ontologies of the up-list (Fig. 3, *a*) and down-list (Fig. 3, *b*) identifies 5 groups, whose ontologies are related to each other through a common parent term.

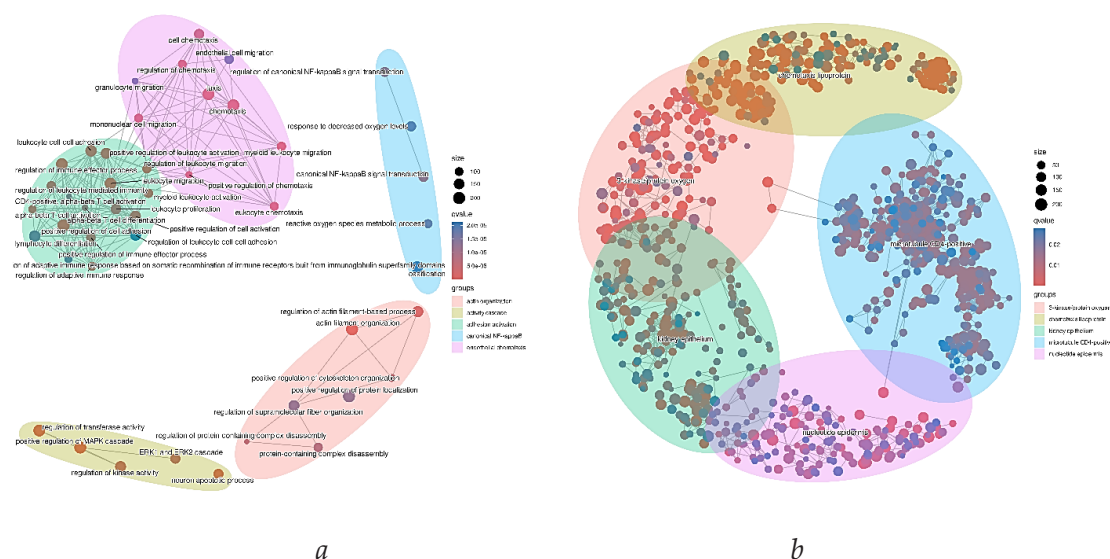


Fig. 2. The example of clustering of significant (q -value < 0.05) down-list gene ontologies: the first 45 (*a*) and all 1,258 (*b*)

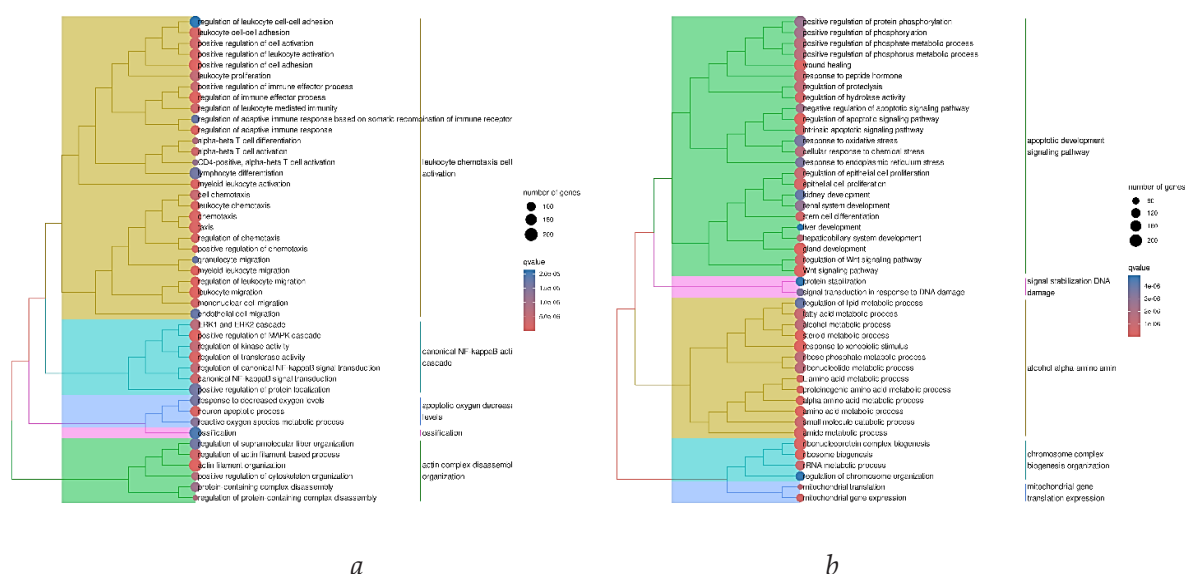


Fig. 3. The example of the possible hierarchy of gene ontologies of the up-list (*a*) and down-list (*b*)

Conclusions

The developed pipeline demonstrates complex capabilities. On the one hand, it allows analyzing the effect of chemical compounds on *a priori* known genes and metabolic pathways; on the other hand, it helps to identify potentially new pharmacological effects of the compounds under study. This toolkit is of particular value for preclinical studies, where rapid data processing and cost-effective methods are essential. As modern studies show, the use of *in silico* approaches significantly

optimizes the screening of biologically active compounds [38]. In particular, similar methods can save 30–40 % of the time compared to traditional approaches [39] and significantly reduce financial costs during the initial stages of new drug development [3; 40]. In addition, the application of this approach in personalized medicine, where rapid analysis of individual genetic and metabolic profiles of patients is crucial, is of particular practical interest. These results open up prospects for further development of this area of research. The authors hope that the proposed methodology will become a useful tool for the scientific community, combining three key advantages: (1) high analytical efficiency, (2) simplicity of use, and (3) cost-effectiveness. The presented approach can be widely applied in both fundamental studies of the mechanisms of medicinal substance effects and in practical applications across molecular biology, pharmacology, and bioinformatics.

Funding. The research was conducted with the financial and organizational support of BioGlobus LLC (Moscow) and Innovative Communications LLC (Tomsk).

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

Финансирование. Исследование проводилось при финансовой и организационной поддержке ООО «БиоГлобус» (Москва) и ООО «Инновационные коммуникации» (Томск).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

References

1. Paul S. M., Mytelka D. S., Dunwiddie C. T., Persinger C. C., Munos B. H., Lindborg S. R., et al. How to improve R&D productivity: the pharmaceutical industry's grand challenge. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2010, 9(3), 203–214, DOI: 10.1038/nrd3078.
2. Swinney D. C., Anthony J. How were new medicines discovered? *Nat. Rev. Drug Discov.* 2011, 10(7), 507–19, DOI: 10.1038/nrd3480.
3. Ekins S., Puhl A. C., Zorn K. M., Lane T. R., Russo D. P., Klein J. J., et al. Exploiting machine learning for end-to-end drug discovery and development. *Nat. Mater.* 2019, 18(5), 435–441, DOI: 10.1038/s41563-019-0338-z.
4. Yang K., Swanson K., Jin W., Coley C., Eiden P., Gao H., et al. Correction to Analyzing Learned Molecular Representations for Property Prediction. *J. Chem. Inf. Model.* 2019, 59(12), 5304–5305, DOI: 10.1021/acs.jcim.9b01076.
5. Anighoro A., Bajorath J., Rastelli G. Polypharmacology: Challenges and Opportunities in Drug Discovery. *J. Med. Chem.* 2014, 57(19), 7874–7887, DOI: 10.1021/jm5006463.
6. Lyu J., Wang S., Balius T. E., Singh I., Levit A., Moroz Y. S., et al. Ultra-large library docking for discovering new chemotypes. *Nature.* 2019, 566(7743), 224–229, DOI: 10.1038/s41586-019-0917-9.
7. Shaker B., Ahmad S., Lee J., Jung C., Na D. In silico methods and tools for drug discovery. *Computers in Biology and Medicine.* 2021, 137, 104851, DOI: 10.1016/j.compbiomed.2021.104851.
8. Macarron R., Banks M. N., Bojanic D., Burns D. J., Cirovic D. A., Garyantes T., et al. Impact of high-throughput screening in biomedical research. *Nat. Rev. Drug. Discov.* 2011, 10(3), 188–195, DOI: 10.1038/nrd3368.
9. Drews J. Drug discovery: a historical perspective. *Science.* 2000, 287(5460), 1960–1964, DOI: 10.1126/science.287.5460.1960.

10. Tang Y., Zhu W., Chen K., Jiang H. New technologies in computer-aided drug design: Toward target identification and new chemical entity discovery. *Drug Discovery Today: Technologies*. 2006, 3(3), 307–313, DOI: 10.1016/j.ddtec.2006.09.004.
11. Dawson M. A., Kouzarides T. Cancer Epigenetics: From Mechanism to Therapy. *Cell*. 2012, 150(1), 12–27, DOI: 10.1016/j.cell.2012.06.013.
12. Omarov M. A., Mulyukov A. R., Khalitov R. V., Safarov S. I., Ayupova G. U., Demianenko O. N., et al. Epigenetic modulation in medicine: Regulation of gene expression in the context of pathogenesis and therapy. *Acta Biomedica Scientifica*. 2024, 9(6), 22–33, DOI: 10.29413/ABS.2024-9.6.3.
13. Allis C. D., Jenuwein T. The molecular hallmarks of epigenetic control. *Nat. Rev. Genet.* 2016, 17(8), 487–500, DOI: 10.1038/nrg.2016.59.
14. Kelly T. K., De Carvalho D. D., Jones P. A. Epigenetic modifications as therapeutic targets. *Nat. Biotechnol.* 2010, 28(10), 1069–1078, DOI: 10.1038/nbt.1678.
15. Huang G., Yan F., Tan D. A Review of Computational Methods for Predicting Drug Targets. *Current Protein & Peptide Science*. 2018, 19(6), 562–572, DOI: 10.2174/1389203718666161114113212.
16. Sun X., Hu B. Mathematical modeling and computational prediction of cancer drug resistance. *Briefings in Bioinformatics*. 2018, 19(6), 1382–1399, DOI: 10.1093/bib/bbx065.
17. Bender A., Glen R. C. Molecular similarity: a key technique in molecular informatics. *Org. Biomol. Chem.* 2004, 2(22), 3204–3218, DOI: 10.1039/B409813G.
18. Poroikov V. V. Search for new pharmacological substances based on computer prediction of biological activity spectra. *Laboratory and production*. 2021, 1(16), 72–80, DOI: 10.32757/2619-0923.2021.1.16.72.80.
19. Filimonov D. A., Druzhilovskiy D. S., Lagunin A. A., Glorizova T. A., Rudik A. V., Dmitriev A. V., et al. Computer-aided Prediction of Biological Activity Spectra for Chemical Compounds: Opportunities and Limitations. *Biomedical Chemistry: Research and Methods*. 2018, 1(1), e00004–e00004, DOI: 10.18097/BMCRM00004.
20. Lagunin A., Ivanov S., Rudik A., Filimonov D., Poroikov V. DIGEP-Pred: web service for in silico prediction of drug-induced gene expression profiles based on structural formula. *Bioinformatics*. 2013, 29(16), 2062–2063, DOI: 10.1093/bioinformatics/btt322.
21. Ivanov S. M., Rudik A. V., Lagunin A. A., Filimonov D. A., Poroikov V. V. DIGEP-Pred 2.0: A web application for predicting drug-induced cell signaling and gene expression changes. *Mol. Inform.* 2024, 43(12), e202400032, DOI: 10.1002/minf.202400032.
22. Yu G. Thirteen years of clusterProfiler. *Innovation (Camb)*. 2024, 5(6), 100722, DOI: 10.1016/j.xinn.2024.100722.
23. Xu S., Hu E., Cai Y., Xie Z., Luo X., Zhan L., et al. Using clusterProfiler to characterize multiomics data. *Nat. Protoc.* 2024, 19(11), 3292–3320, DOI: 10.1038/s41596-024-01020-z.
24. Wu T., Hu E., Xu S., Chen M., Guo P., Dai Z., et al. ClusterProfiler 4.0: A universal enrichment tool for interpreting omics data. *Innovation (Camb)*. 2021, 2(3), 100141, DOI: 10.1016/j.xinn.2021.100141.
25. Yu G., Wang L. G., Han Y., He Q. Y. ClusterProfiler: an R Package for Comparing Biological Themes Among Gene Clusters. *OMICS: A Journal of Integrative Biology*. 2012, 16(5), 284–287, DOI: 10.1089/omi.2011.0118.
26. Yu G., Wang L. G., Yan G. R., He Q. Y. DOSE: an R/Bioconductor package for disease ontology semantic and enrichment analysis. *Bioinformatics*. 2015, 31(4), 608–609, DOI: 10.1093/bioinformatics/btu684.

27. Pagès H., Carlson M., Falcon S., Li N. AnnotationDbi: Manipulation of SQLite-based annotations in Bioconductor. AnnotationDbi, R package version 1.70.0. 2025, DOI: 10.18129/B9.bioc.
28. Carlson M. org.Hs.eg.db: Genome wide annotation for Human, DOI: 10.18129/B9.bioc.org.Hs.eg.db.
29. Tenenbaum D., Maintainer B. KEGGREST: Client-side REST access to the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG). R package version 1.48.0. 2025, DOI: 10.18129/B9.bioc.KEGGREST.
30. Carlson M. GO.db: A set of annotation maps describing the entire Gene Ontology. R package version 3.21.0, DOI: 10.18129/B9.bioc.GO.db.
31. Slenter D. N., Kutmon M., Hanspers K., Riutta A., Windsor J., Nunes N., et al. WikiPathways: a multifaceted pathway database bridging metabolomics to other omics research. *Nucleic Acids Research*. 2018, 46(D1), D661–D667, DOI: 10.1093/nar/gkx1064.
32. Gustavsen J. A., Pai S., Isserlin R., Demchak B., Pico A. R. RCy3: Network biology using Cytoscape from within R. *F1000Res*. 2019, 8, 1774, DOI: 10.12688/f1000research.20887.3.
33. Avdeeva E., Shults E., Rybalova T., Reshetov Y., Porokhova E., Sukhodolo I., et al. Chelidonic Acid and Its Derivatives from *Saussurea Controversa*: Isolation, Structural Elucidation and Influence on the Osteogenic Differentiation of Multipotent Mesenchymal Stromal Cells In Vitro. *Biomolecules*. 2019, 9(5), 189, DOI: 10.3390/biom9050189.
34. Avdeeva E., Porokhova E., Khlusov I., Rybalova T., Shults E., Litvinova L., et al. Calcium Chelidonate: Semi-Synthesis, Crystallography, and Osteoinductive Activity In Vitro and In Vivo. *Pharmaceuticals*. 2021, 14(6), 579, DOI: 10.3390/ph14060579.
35. Kaufman L., Rousseeuw P. J. Partitioning Around Medoids (Program PAM). John Wiley & Sons, Inc. 2008, 68–125, DOI: 10.1002/9780470316801.ch2.
36. Hennig C., Meila M., Murtagh F., Murtagh F., Rocci R., Eds. Handbook of cluster analysis. CRC Press. CRC Press: Boca Raton. 2015, DOI: 10.1201/B19706.
37. Schubert E., Rousseeuw P. J. Faster k-Medoids Clustering: Improving the PAM, CLARA, and CLARANS Algorithms. In: Amato G., Gennaro C., Oria V., Radovanović M., Eds. Similarity Search and Applications. Springer International Publishing: Cham. 2019, 171–187, DOI: 10.1007/978-3-030-32047-8_16.
38. Stokes J. M., Yang K., Swanson K., Jin W., Cubillos-Ruiz A., Donghia N. M., et al. A Deep Learning Approach to Antibiotic Discovery. *Cell*. 2020, 180(4), 688–702, DOI: 10.1016/j.cell.2020.01.021.
39. Lavecchia A. Machine-learning approaches in drug discovery: methods and applications. *Drug Discovery Today*. 2015, 20(3), 318–331, DOI: 10.1016/j.drudis.2014.10.012.
40. Elton D. C., Boukouvalas Z., Fuge M. D., Chung P. W. Deep learning for molecular design—a review of the state of the art. *Mol. Syst. Des. Eng.* 2019, 4(4), 828–849, DOI: 10.1039/C9ME00039A.

The authors

Temur F. Nasibov, Laboratory research assistant, Division of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University, Russia.

ORCID: 0000-0002-8056-3967

Anna V. Gorokhova, Laboratory research assistant, Division of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University, Russia.

ORCID: 0000-0001-8401-7181

Konstantin S. Brazovsky, Professor, D.Sc. (Eng.), Division of Medical and Biological Cybernetics, Siberian State Medical University, Russia.

ORCID: 0000-0002-4779-9820

Ekaterina D. Porokhova, Assistant lecturer, Division of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University, Russia.

ORCID: 0000-0002-7317-2036

Elena Yu. Avdeeva, Professor, D.Sc. (Pharm.), Division of Pharmaceutical Analysis, Siberian State Medical University, Russia.

ORCID: 000-0001-7061-9843

Mikhail V. Belousov, Head, D.Sc. (Pharm.) / Professorship, Division of Pharmaceutical Analysis, Siberian State Medical University, Russia.

ORCID: 0000-0002-2153-7945

Igor A. Khlusov, Head, D.Sc. (Med.) / Professorship, Laboratory of Cellular and Microfluidic Technologies, Siberian State Medical University, Russia.

ORCID: 0000-0003-3465-8452

Об авторах

Темур Фируддин оглы Насибов, лаборант-исследователь, кафедры морфологии и общей патологии, Сибирский государственный медицинский университет, Россия.

ORCID: 0000-0002-8056-3967

Анна Владимировна Горохова, лаборант-исследователь, кафедры морфологии и общей патологии, Сибирский государственный медицинский университет, Россия.

ORCID: 0000-0001-8401-7181

Константин Станиславович Бразовский, профессор, доктор технических наук, кафедры медицинской и биологической кибернетики, Сибирский государственный медицинский университет, Россия.

ORCID: 0000-0002-4779-9820

Екатерина Даниловна Порохова, ассистент, кафедры морфологии и общей патологии, Сибирский государственный медицинский университет, Россия.

ORCID: 0000-0002-7317-2036

Елена Юрьевна Авдеева, профессор, доктор фармацевтических наук, доцент, кафедры фармацевтического анализа, Сибирский государственный медицинский университет, Россия.

ORCID: 000-0001-7061-9843

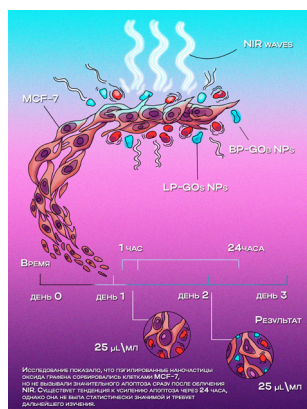
Михаил Валерьевич Белоусов, заведующий кафедрой, доктор фармацевтических наук, профессор, кафедра фармацевтического анализа, Сибирский государственный медицинский университет, Россия.

ORCID: 0000-0002-2153-7945

Игорь Альбертович Хлусов, руководитель, доктор медицинских наук, профессор, лаборатория клеточных и микрофлюидных технологий, Сибирский государственный медицинский университет, Россия.

ORCID: 0000-0003-3465-8452

Original research article

EVALUATION OF THE EFFECTS OF GRAPHENE
OXIDE NANOPARTICLES ON MCF-7 CELLS
UNDER NIR IRRADIATIONM. D. Dolgikh^{1, 2}, M. S. Bochkova^{1, 2},
V. P. Timganova², S. A. Zamorina^{1, 2*}¹ Perm State National Research University,
614068, Perm, Russia² Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms,
Ural Branch of the Russian Academy of Sciences,
620049, Perm, Russia

* Correspondence: mantissa7@mail.ru

Abstract: The development of novel approaches to induce apoptosis in tumour cells remains a key challenge in contemporary biomedicine. Given the exceptional thermal conductivity of graphene, we employed one of its derivatives — graphene oxide (GO) — to achieve localised heating of cells under near-infrared (NIR) irradiation *in vitro*. In this study, graphene oxide nanoparticles coated with either linear (LP-GOs, $\text{Ø}184 \pm 73$ nm) or branched (BP-GOb, $\text{Ø}1376 \pm 48$ nm) polyethylene glycol were used. The MCF-7 breast adenocarcinoma cell line served as the cancer model. Cells were cultured for 24 hours to allow monolayer formation, after which LP-GOs and BP-GOb nanoparticles were added at final concentrations of 5 and 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$. The cells were then irradiated with NIR light using a Hydrosun-750 lamp for 1 hour. Cell viability, nanoparticle sorption / uptake and the rates of early and late apoptosis / necrosis were assessed at 1 and 24 hours post-irradiation.

MCF-7 cells exhibited the capacity for sorption of PEGylated graphene oxide nanoparticles, including under conditions of NIR irradiation. After 24 hours of incubation, the proportion of PC7+ (GO-positive) cells reached approximately 10 % at a concentration of 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and 50 % at 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$. NIR-irradiated nanoparticles did not produce statistically significant changes in cell viability or apoptosis/necrosis rates. However, a trend towards increased cell death and apoptosis was observed 24 hours post-irradiation.

Keywords: graphene oxide nanoparticles, MCF-7, NIR irradiation, hyperthermia, apoptosis

To cite this article:

Dolgikh M. D., Bochkova M. S.,
Timganova V. P., Zamorina S. A.
Evaluation of the effects of graphene
oxide nanoparticles on MCF-7 cells
under NIR irradiation. *Advanced targets
in Biomedicine*. 2025;1(1):20—30.
<https://doi.org/10.5922/ATB-2025-1-1-2>

Received
22.04.2025
Revised
03.06.2025
Accepted
05.06.2025
Published
15.07.2025

© Dolgikh M. D., Bochkova M. S.,
Timganova V. P., Zamorina S. A., 2025



Оригинальная исследовательская статья

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ГРАФЕНА НА КЛЕТКИ ЛИНИИ MCF-7 ПОД ДЕЙСТВИЕМ БИК-ОБЛУЧЕНИЯ

М. Д. Долгих^{1,2}, М. С. Бочкова^{1,2},
В. П. Тимганова², С. А. Заморина^{1,2*}

¹ Пермский государственный национальный
исследовательский университет,
614068, Россия, Пермь

² Институт экологии и генетики микроорганизмов,
Уральское отделение Российской академии наук,
620049, Россия, Пермь

* Автор-корреспондент: mantissa7@mail.ru

Для цитирования:

Долгих М. Д., Бочкова М. С.,
Тимганова В. П., Заморина С. А.
Оценка влияния наночастиц оксида
графена на клетки линии MCF-7
под действием БИК-облучения.
*Современные направления в
биомедицине*. 2025;1(1):20–30.
<https://doi.org/10.5922/ATB-2025-1-1-2>

Поступила
22.04.2025 г.
Прошла рецензирование
03.06.2025 г.
Принята к печати
05.06.2025 г.
Опубликована
15.07.2025 г.

© Долгих М. Д., Бочкова М. С.,
Тимганова В. П., Заморина С. А.,
2025

Резюме: Поиск новых способов индукции апоптоза опухолевых клеток является актуальной задачей биомедицины. Учитывая уникальную теплопроводность графена, мы использовали данный наноматериал для нагрева клеток под воздействием ближнего инфракрасного излучения (БИК) в условиях *in vitro*. В работе применялись наночастицы оксида графена, покрытые линейным (лП-ОГм, Ø184 ± 73 нм) и 8-разветвленным (рП-ОГб, Ø1376 ± 48 нм) полиэтиленгликолем. Объектом исследования являлась клеточная линия аденокарциномы молочной железы MCF-7. Клетки культивировали 24 часа для образования монослоя. После этого добавляли наночастицы лП-ОГм и рП-ОГб в конечной концентрации 5 и 25 мкг/мл и затем облучали БИК-лучами (лампа Hydrosun 750) в течение 1 часа. Оценивали жизнеспособность клеток, поглощение/адгезию наночастиц клетками, а также параметры раннего и позднего апоптоза / некроза через 1 час и 24 часа после облучения. Установлено, что клетки MCF-7 способны сорбировать наночастицы оксида графена, в том числе под действием БИК-облучения. Через 24 часа инкубации уровень PC7 + - клеток составлял 10 % (5 мкг/мл) и 50 % (25 мкг/мл). Показано, что наночастицы под воздействием БИК-облучения не оказывают статистически значимого влияния на жизнеспособность и показатели раннего и позднего апоптоза/некроза клеток линии MCF-7. Однако через 24 часа после облучения наблюдается тенденция к увеличению этих показателей.

Ключевые слова: наночастицы оксида графена, MCF-7, БИК-облучение, гипертермия, апоптоз

Introduction

According to the World Health Organisation, breast cancer ranks first among all cancers in terms of new incidence. In 2020, it affected over 2,3 million people globally, with 685.000 recorded deaths [1]. One of the most prevalent forms of breast cancer is the luminal A subtype, which is most commonly diagnosed in older women [2]. The MCF-7 cell line — an epithelial tumour line representative of this subtype — is employed as a model system in the present study. MCF-7 cells serve as a suitable model for investigating various parameters, including cytotoxicity and functional, proliferative and secretory activities during interactions with different types of nanoparticles [3].

In recent years, devices emitting light in the near-infrared (NIR) range have gained increasing popularity. Typically represented by high-intensity lasers or specialised lamps, they are used across various fields of medicine, including the treatment of osteoarthritis [4]. Their therapeutic effect is attributed to the deep penetration of infrared radiation into bodily tissues and its action at the cellular level.

Interest in the application of NIR radiation in oncology is driven, in part, by the unique properties of graphene oxide (GO). Owing to its high thermal conductivity, GO is highly efficient at absorbing infrared light and converting it into thermal energy [5]. However, its direct use is constrained by inherent toxicity. To enhance biocompatibility and minimise toxic effects, GO was modified with linear and branched polyethylene glycol (PEG). The low cytotoxicity of such PEGylated nanoparticles has previously been demonstrated in T-lymphocytes (up to 25 µg/mL) [6], macrophages (up to 31,25 µg/mL) [7] and human peripheral blood mononuclear cells (up to 20 µg/mL) [8]. Thus, the minimal cytotoxicity of graphene oxide nanoparticles towards healthy tissues, combined with the accessibility of breast cancer sites to NIR therapy, renders this approach a promising strategy for tumour treatment.

The aim of this study was to investigate the effect of graphene oxide nanoparticles under NIR irradiation on MCF-7 cells. Specifically, the impact of GO nanoparticles on cell viability and apoptosis was assessed following NIR exposure in the presence of the nanoparticles.

Materials and Methods

Materials

Cell culture. MCF-7 cell line (PrimeBioMed, Russia).

Reagents. DMEM cell culture medium without phenol red (BioInn Labs, Russia); FBS (Capricorn Scientific, Germany), antibiotic-antimycotic solution (Himedia, India), L-glutamine (Biological Industries, Israel); Accutase (Capricorn Scientific, Germany); DPBS without Ca^{2+} and Mg^{2+} (PanEco, Russia); Zombie Aqua (BioLegend, USA), FITC Annexin V (BioLegend, USA); BSA (Life technologies Corporation, USA), NaN_3 (Dia-M, Russia).

Equipment. Hydrosun 750 NIR lamp (Hydrosun Medizintechnik, Germany, Table 1); CytoFLEX S flow cytometer (Beckman Coulter; USA); PST-60 HL shaker-thermostat (BioSan, Latvia).

Table 1

Hydrosun-750 lamp specifications

Nominal voltage 50/60 Hz	Power consumption	Infrared source USHIO	Average lifetime of the source	Radiation intensity (distance 32 cm = distance rod)	
				BTE31 color filter	No color filter
230 V AC	775 W	HPL 750/230X +	1500 hours	200 mW/cm ² ± 10 %	225 mW/cm ² ± 10 %

Graphene oxide nanoparticles. Graphene oxide (Ossila Ltd, UK) was coated with linear polyethylene glycol (LP-GOs) and 8-branched polyethylene glycol (BP-GOb). Nanoparticles were applied to cells at concentrations of 5 and 25 µg/mL. The characteristics of the nanoparticles are summarised in Table 2, with more detailed information available in a previously published study by our colleagues [9].

Table 2

Characteristics of graphene oxide nanoparticles coated with linear and 8-branched polyethylene glycol

Particle name	Size	Zeta potential
LP-GOs	Ø184 ± 73 nm	− 31.70 ± 1.70, mV
BP-GOb	Ø1376 ± 48 µm	− 53.56 ± 1.23, mV

Cultivation of MCF-7 cells. MCF-7 cells were cultured in DMEM growth medium supplemented with 10 % FBS, 2 mM L-glutamine and 1 % antibiotic-antimycotic solution. Re-seeding was carried out when the cells reached 80–90 % confluency. Cell cultures were maintained in a CO₂ incubator at 37°C with 5 % CO₂. For the experiments, 125 µL of cell culture medium containing 45,000 cells was added to each well of a 96-well plate. Following the addition of the nanoparticles, the total volume per well was 150 µL. The overall experimental design is illustrated in Figure 1.

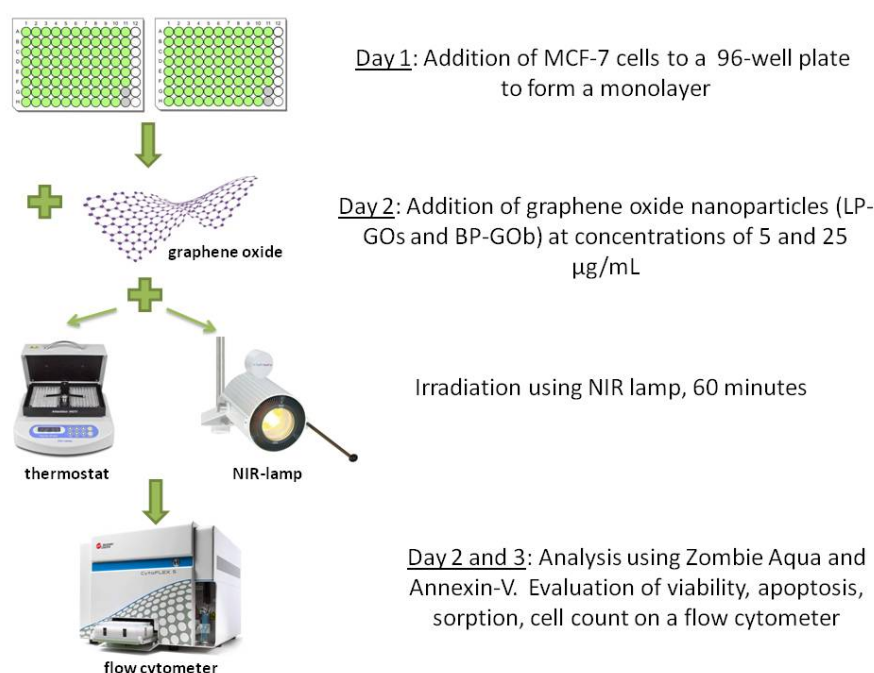


Fig. 1. The experimental design for investigating the effect of graphene oxide nanoparticles on MCF-7 cells under NIR irradiation

NIR irradiation. After 24 hours of cultivation of MCF-7 cells with PEGylated graphene oxide, two identical 96-well plates containing the cells were placed on a shaker thermostat until a temperature of 37°C was reached. One plate was then exposed to NIR irradiation for 1 hour, while the other was kept in the shaker thermostat for the same duration as a negative control. The effects were assessed 1 hour and 24 hours post-treatment.

Detachment of cells from the cell plate surface. Culture medium was transferred from the wells into test tubes. After resuspension, the wells were washed with DPBS. Accutase solution was then added to the wells, and the plates were placed on a thermo shaker at 340 rpm and 37°C for 10 minutes. Detached cells were collected into the test tubes. Cold DPBS was added to each well; the remaining cells were resuspended and transferred to the same tubes.

Sorption of NPs. A flow cytometry method detecting graphene oxide autofluorescence in the red spectral channel (PC-7) was employed to assess this interaction. Since this method cannot distinguish between nanoparticle adhesion to the cell surface and internalisation, the term «sorption» is used to describe the interaction between MCF-7 cells and the nanoparticles. A group not treated with GO served as the negative control.

Cell count determination. After detaching the cells from the culture plate surface, the volume of liquid in each tube was measured using a pipette. The samples were then diluted 40- and 70-fold. The absolute cell number was calculated by multiplying the event count per millilitre by the sample volume.

Assessment of viability and apoptosis. Zombie Aqua (ZA) dye was used to assess cell viability, while Annexin V was employed to detect apoptosis. DPBS was added to the tubes, and the cells were centrifuged for 10 minutes at 350g. Supernatants were removed, after which Zombie Aqua was added to the stained tubes and DPBS to the unstained ones. The tubes were incubated in the dark at room temperature for 30 minutes. Cold staining buffer (DPBS with 0.5 % BSA and 0.1 % NaN_3) was then added, and the cells were centrifuged at 4°C for 10 minutes at 350g. The cells were resuspended in Annexin V solution and incubated in the dark at room temperature for 15 minutes. Annexin V-binding buffer was subsequently added, and the cells were kept on ice. The percentage of viable cells and apoptosis level were evaluated for singlet cells using gating (FSC-A vs. FSC-H).

Statistical analysis. Statistical processing was performed using GraphPad Prism 8 software with a parametric one-way ANOVA test and correction for multiple comparisons (Tukey's test). Four independent experiments were conducted. Significant differences compared to the control are indicated separately for the «thermostat» and «NIR-lamp» groups.

Results and discussion

Nanoparticle sorption. The study examined the ability of PEGylated graphene oxide to interact with MCF-7 cells. The results presented in Figure 2 show a clear positive correlation between the degree of GO nanoparticle sorption and their concentration in the medium. For instance, at a concentration of 5 µg/mL, the proportion of PC7+ cells reaches approximately 10 %, regardless of nanoparticle type, whereas at 25 µg/mL, the percentage exceeds 30 %.

Additionally, an increase in the sorption of LP-GOs by the cells 24 hours after treatment was observed, suggesting that the interaction is time-dependent and requires a certain period to reach saturation.

A review article on the uptake of GO by mammalian cells notes that nanoparticles ranging from 500 to 4000 nm are not internalised by MCF-7 cells but in-

stead adhere to their surface [10]. However, the authors emphasise that this effect is size-dependent. Therefore, it is likely that the BP-GOb nanoparticles (1–5 μm) used in this study primarily adhere to the cell surface, whereas LP-GOs are more likely to penetrate the cells.

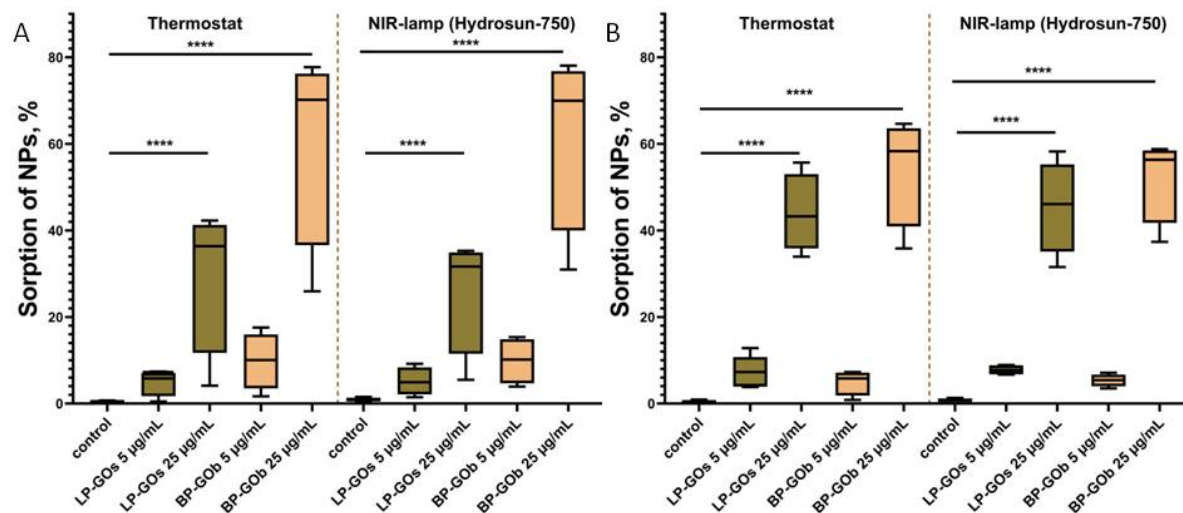


Fig. 2. Sorption of PEGylated graphene oxide by MCF-7 cells 1 hour after irradiation (A) and 24 hours after irradiation (B).

N = 4. Median and interquartile ranges (IQR) are presented. **** – $p \leq 0.0001$

Cell counting. Cell counting was performed immediately after detachment from the culture plate surface. As shown in Figure 3, there were no statistically significant differences in the number of MCF-7 cells between the control group and the groups treated with PEGylated GO or exposed to NIR irradiation. Thus, PEGylated graphene oxide nanoparticles and NIR irradiation had no measurable effect on MCF-7 cell numbers.

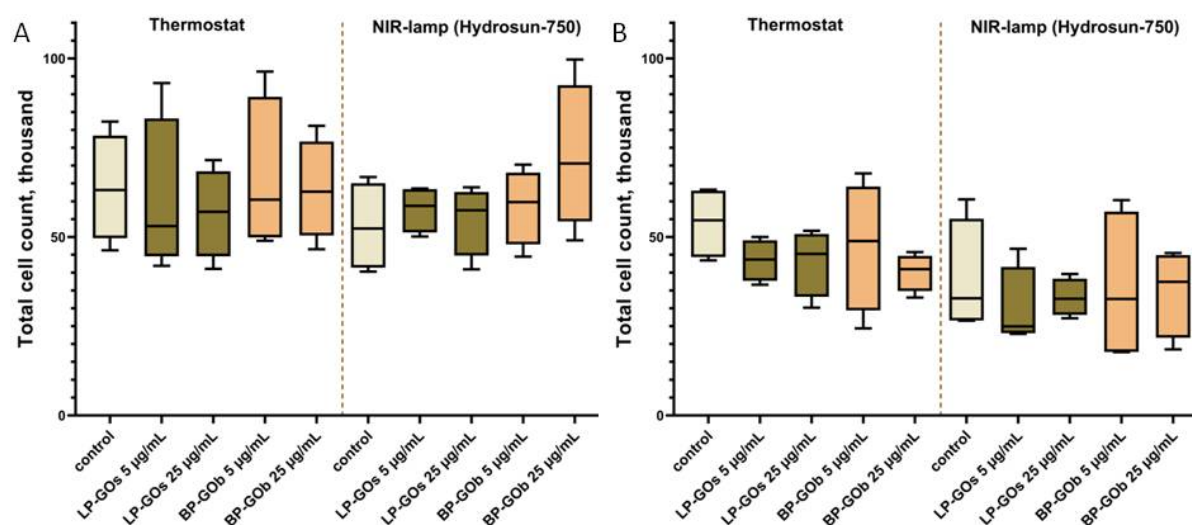


Fig. 3. MCF-7 cell counts 1 hour after irradiation (A) and 24 hours after irradiation (B). N = 4. Median and IQR are presented

Viability. Cell viability was assessed using Zombie Aqua dye, which penetrates cells with damaged membranes. The study showed that PEGylated graphene oxide and NIR irradiation had no statistically significant effect on MCF-7 cell viability (Fig. 4). However, a tendency towards decreased viability was observed 24 hours after irradiation.

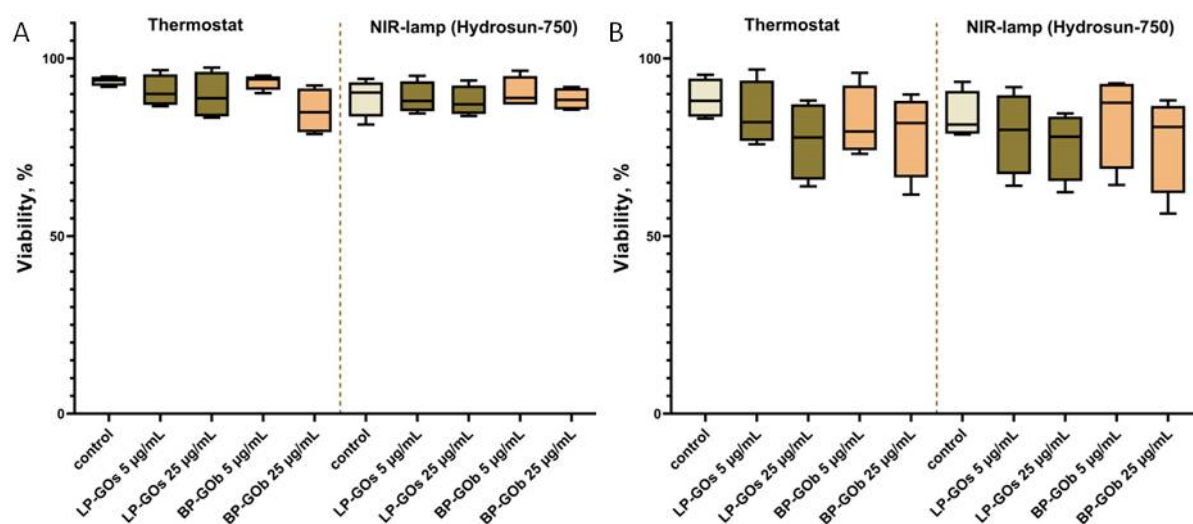


Fig. 4. MCF-7 cell viability 1 hour after irradiation (A) and 24 hours after irradiation (B). N = 4, median and IQR are presented

Apoptosis. The experimental results showed that PEGylated GO and NIR irradiation had no significant effect on early apoptosis (ZA⁻ Annexin V⁺) or late apoptosis / necrosis (ZA⁺ Annexin V⁺) in MCF-7 cells (Fig. 5). However, 24 hours after irradiation, a trend towards an increase in these indicators was observed. In similar studies, graphene oxide coated with 8-hydroxyquinoline induced apoptosis in MCF-7 cells at a concentration of 0,5 mg/mL after 48 hours of cultivation [11]. This suggests that the apoptotic response in the present study may reflect a delayed effect.

Since 2010, graphene-induced hyperthermia of tumour cells has been studied both *in vitro* and *in vivo*. Experiments in mice have shown that PEGylated graphene oxide nanoparticles exhibit highly efficient passive accumulation in transplanted tumours, with relatively low retention in the reticuloendothelial system. NIR irradiation using an 808 nm diode laser resulted in highly effective tumour ablation following intravenous nanoparticle injection. Moreover, no apparent side effects were observed in the treated mice, as confirmed by histological, haematological and biochemical analyses [12].

Over the past 15 years, notable progress has been made in the study of graphene as an agent for local tumour hyperthermia [13]. In 2023, ultra-small graphene oxide nanoparticles (average size 30 nm) modified with polydopamine were synthesised. These nanoparticles demonstrated good biocompatibility, excellent photothermal performance and a high drug-loading capacity for doxorubicin [14]. Overall, conjugated nanoparticles have been regarded as a promising approach to combine chemotherapy and phototherapy in tumour treatment.

Yet no clinical studies have been performed. In addition, the cytotoxic mechanisms of nanoparticles against tumour cells remain poorly understood. Besides apoptosis induced by the temperature rise during hyperthermia [15], increased intracellular

production of reactive oxygen species (ROS) following nanoparticle treatment has been reported [16]. Elevated ROS levels cause damage to proteins, nucleic acids, lipids, membranes and organelles, ultimately leading to cell death.

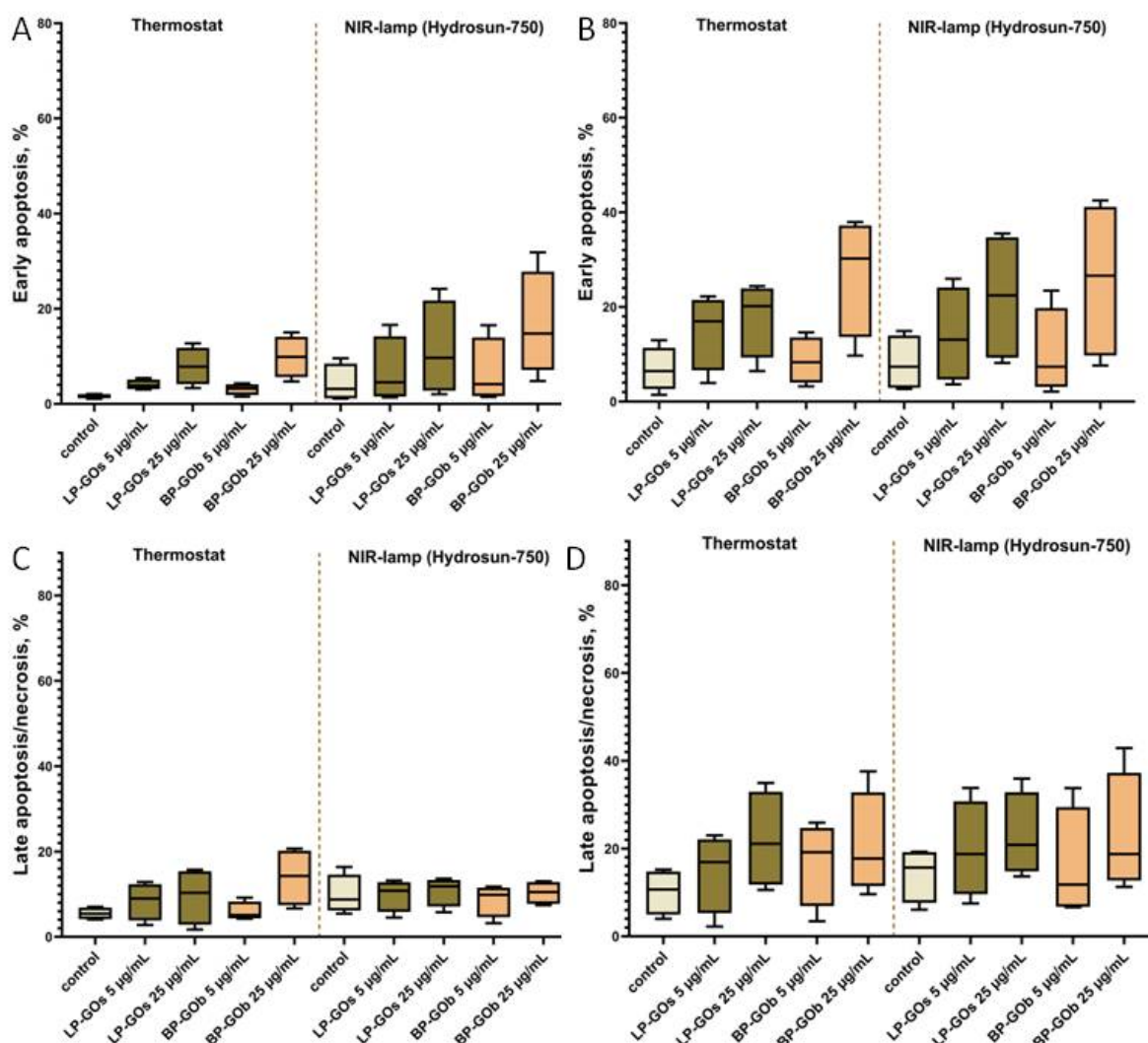


Fig. 5. Early apoptosis of MCF-7 cells 1 hour after irradiation (A) and 24 hours after irradiation (B). Late apoptosis/necrosis of MCF-7 cells 1 hour after irradiation (C) and 24 hours after irradiation (D). N = 4, median and interquartile ranges (IQR) are presented

Thus, our study demonstrated that PEGylated graphene oxide, irrespective of the type of modification (linear or branched PEG) and the exposure method (thermostat storage or NIR irradiation), had no effect on cell count, viability or apoptosis. Consequently, these exposure conditions are not toxic to MCF-7 tumour cells (Fig. 6).

PEG-coated graphene oxide can be sorbed by MCF-7 cells, indicating its potential for further investigation. Future experiments will focus on optimising the extracellular environment to induce apoptosis following nanoparticle application. Overall, it is crucial to develop a technique that selectively eliminates cancer cells while preserving healthy tissue. Achieving this requires careful optimisation of parameters such as nanoparticle concentration, exposure time and other factors influencing the efficacy and safety of the treatment.

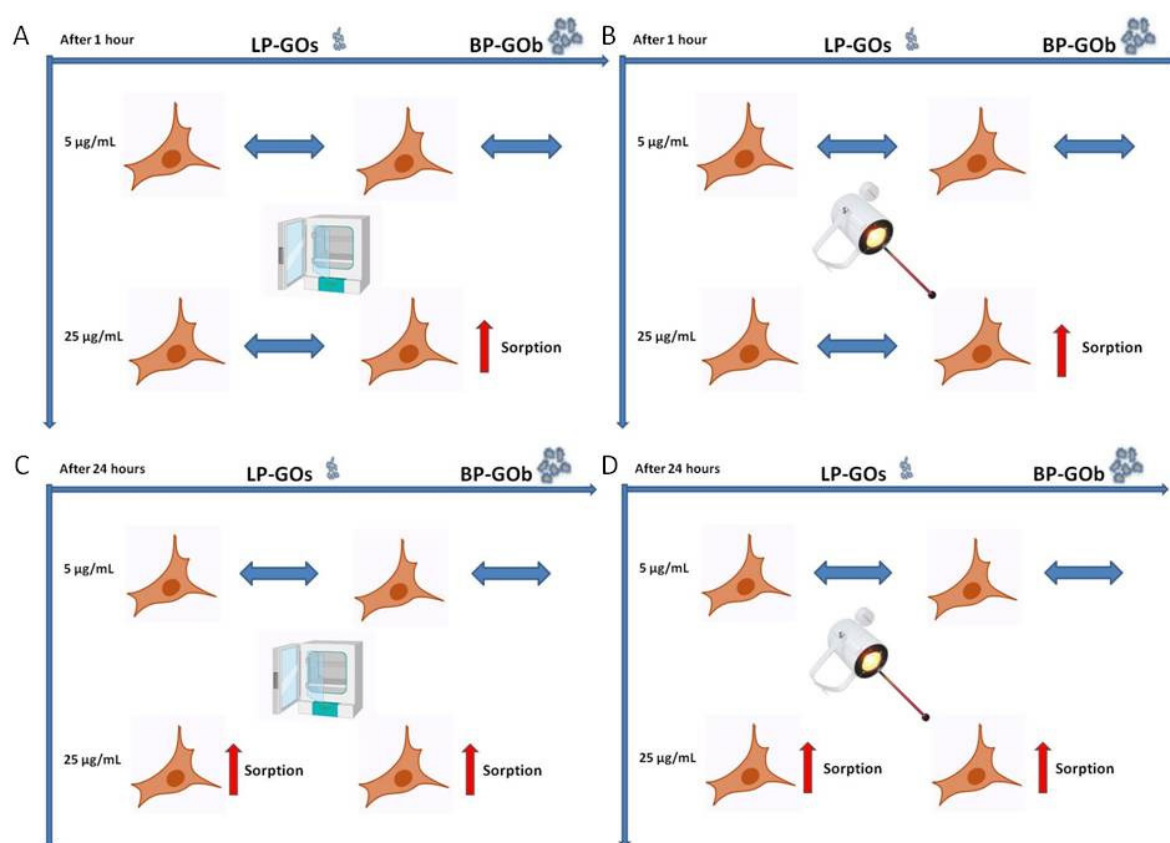


Fig. 6. Summary of the findings. Effects were evaluated 1 hour (A and B) and 24 hours (C and D) after irradiation

Funding. This article was prepared within the framework of the research and development project «*Study of the Mechanisms Regulating Immune System Cells and the Development of Methods for Their Evaluation under Normal and Pathological Conditions*» (Registration № 124020500027-7), conducted at the Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences.

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

Финансирование. Статья написана в рамках научно-исследовательского проекта «Изучение механизмов регуляции клеток иммунной системы и разработка методов их оценки в норме и патологии», Рег. номер: 124020500027-7, реализуемого в Институте экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской Академии Наук.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

References

1. Arnold M., Morgan E., Rungay H., Mafra A., Singh D., Laversanne M., et al. Current and future burden of breast cancer: Global statistics for 2020 and 2040. *Breast*. 2022, 66, 15–23, DOI: 10.1016/j.breast.2022.08.010.
2. Gao J. J., Swain S. M. Luminal A Breast Cancer and Molecular Assays: A Review. *Oncologist*. 2018, 23(5), 556–565, DOI: 10.1634/theoncologist.2017-0535.

3. Dolgikh M. D., Zamorina S. A. The MCF-7 cell line: characteristics and interaction with nanomaterials of different structures. *Bulletin of Perm University. Biology*. 2024, 2, 231–247, DOI: 10.17072/1994-9952-2024-2-231-247.
4. Trelles M. A., Rigau J., Sala P., Calderhead R. G., Ohshiro T. Infrared diode laser in low reactive-level laser therapy (LLLT) for knee osteoarthritis. *Laser therapy*. 2005, 14, 67–71, DOI: 10.5978/islsm.91-OR-20.
5. Zhu Y., Murali S., Cai W., Li X., Suk J. W., Potts J. R., et al. Graphene and graphene oxide: synthesis, properties, and applications. *Adv. Mater.* 2010, 22(35), 3906–3924, DOI: 10.1002/adma.201001068.
6. Ding, Z., Zhang Z., Ma H., Chen Y. In Vitro Hemocompatibility and Toxic Mechanism of Graphene Oxide on Human Peripheral Blood T Lymphocytes and Serum Albumin. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2014, 6(22), 19797–19807, DOI: 10.1021/am505084s.
7. Lategan K., Alghadi H., Bayati M., Fidalgo de Cortalezzi M., Pool E. Effects of Graphene Oxide Nanoparticles on the Immune System Biomarkers Produced by RAW 264.7 and Human Whole Blood Cell Cultures. *Nanomaterials*. 2018, 8(2), 125, DOI: 10.3390/nano8020125.
8. Campos-Delgado J., Castro K. L.S., Munguia-Lopez J. G., González A. K., Mendoza M. E., Fragneaud B., et al. Effect of graphene oxide on bacteria and peripheral blood mononuclear cells. *Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials*. 2016, 14(4), e423–e430, doi:10.5301/jabfm.5000325.
9. Khramtsov P., Bochkova M., Timganova V., Nechaev A., Uzhviyuk S., Shardina K., et al. Interaction of Graphene Oxide Modified with Linear and Branched PEG with Monocytes Isolated from Human Blood. *Nanomaterials*. 2022, 12(1), 126, DOI: 10.3390/nano12010126.
10. Dąbrowski B., Żuchowska A., Brzózka Z. Graphene oxide internalization into mammalian cells — a review. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2023, 221, 112998, DOI: 10.1016/j.colsurfb.2022.112998.
11. Kheiltash F., Parivar K., Hayati Roodbari N., Sadeghi B., Badiei A. Effects of 8-hydroxyquinoline-coated graphene oxide on cell death and apoptosis in MCF-7 and MCF-10 breast cell lines. *Iran J. Basic Med. Sci.* 2020, 23(7), 871–878, DOI: 10.22038/ijbms.2020.41277.9751.
12. Yang K., Zhang S., Zhang G., Sun X., Lee S. T., Liu Z. Graphene in mice: ultrahigh in vivo tumor uptake and efficient photothermal therapy. *Nano Lett.* 2010, 10(9), 3318–3323, DOI: 10.1021/nl100996u.
13. Revuri V., Mondal J., Lee Y. K. Graphene as Photothermal Therapeutic Agents. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2022, 1351, 177–200, DOI: 10.1007/978-981-16-4923-3_9.
14. Li X., Wang Y., Liu T., Zhang Y., Wang C., Xie B. Ultrasmall graphene oxide for combination of enhanced chemotherapy and photothermal therapy of breast cancer. *Colloids Surf. B Biointerfaces*. 2023, 225, 113288, DOI: 10.1016/j.colsurfb.2023.113288.
15. Ahmed K., Tabuchi Y., Kondo T. Hyperthermia: an effective strategy to induce apoptosis in cancer cells. *Apoptosis*. 2015, 20(11), 1411–1419, DOI: 10.1007/s10495-015-1168-3.
16. Hou Y. J., Yang X. X., Liu R. Q., Zhao D., Guo C. X., Zhu A. C., et al. Pathological Mechanism of Photodynamic Therapy and Photothermal Therapy Based on Nanoparticles. *Int. J. Nanomedicine*. 2020, 2020, 15, 6827–6838, DOI: 10.2147/IJN.S269321.

The authors

Maria D. Dolgikh, laboratory assistant, bachelor, laboratory of Cellular Immunology and Nanobiotechnology “IEGM of the Ural Branch of the RAS”, Perm, Russia.
ORCID: 0009-0002-1418-4157

Maria S. Bochkova, PhD, researcher, laboratory of Cellular Immunology and Nanobiotechnology "IEGM of the Ural Branch of the RAS", Perm, Russia.

ORCID: 0000-0001-5784-6224

Valeria P. Timganova, PhD, researcher, laboratory of Cellular Immunology and Nanobiotechnology "IEGM of the Ural Branch of the RAS", Perm, Russia.

ORCID: 0000-0003-4581-1969

Svetlana A. Zamorina, PhD, D.Sci.Biol., leading researcher, laboratory of Cellular Immunology and Nanobiotechnology "IEGM of the Ural Branch of the RAS", Perm, Russia.

ORCID: 0000-0002-6474-1487

Об авторах

Мария Денисовна Долгих, инженер, бакалавр, лаборатория клеточной иммунологии и нанобиотехнологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов, Уральское отделение Российской академии наук, Пермь, Россия.

ORCID: 0009-0002-1418-4157

Мария Станиславовна Бочкова, кандидат биологических наук, научный сотрудник, лаборатория клеточной иммунологии и нанобиотехнологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов, Уральское отделение Российской академии наук, Пермь, Россия.

ORCID: 0000-0001-5784-6224

Валерия Павловна Тимганова, кандидат биологических наук, научный сотрудник, лаборатория клеточной иммунологии и нанобиотехнологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов, Уральское отделение Российской академии наук, Пермь, Россия.

ORCID: 0000-0003-4581-1969

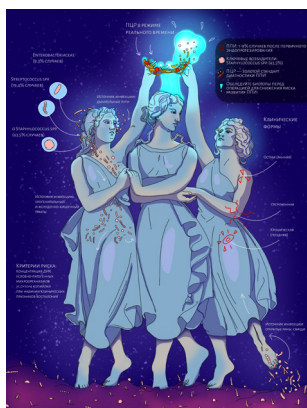
Светлана Анатольевна Заморина, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория клеточной иммунологии и нанобиотехнологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов, Уральское отделение Российской академии наук, Пермь, Россия.

ORCID: 0000-0002-6474-1487

Оригинальная исследовательская статья

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РОЛИ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ *STAPHYLOCOCCUS SPP.*, *STREPTOCOCCUS SPP.* И *ENTEROBACTERIACEAE* В ЭТИОЛОГИИ ПЕРИПРОТЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ ПОСЛЕ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ КРУПНЫХ СУСТАВОВ

А. К. Лямцева*, С. А. Костюк, О. С. Полуян



Научно-исследовательская лаборатория НИИ
экспериментальной и клинической медицины,
Белорусский государственный медицинский университет,
220083, Республика Беларусь, Минск

*Автор-корреспондент: annaliamtsava@gmail.com

Аннотация. Перипротезная инфекция (ППИ) является серьезным осложнением после эндопротезирования крупных суставов, требующим повторного хирургического вмешательства и длительной антимикробной терапии. Использование ПЦР в этиологической диагностике ППИ имеет значительное преимущество, заключающееся в экспресс-варианте получения результата и высокой чувствительности и специфичности. Цель исследования — с использованием метода ПЦР в режиме реального времени установить роль *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* и *Enterobacteriaceae* как микробного этиологического фактора ППИ; изучить присутствие *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* и *Enterobacteriaceae* в биоценозах верхних дыхательных путей, урогенитального и желудочно-кишечного трактов у пациентов с ППИ для определения условно-патогенных бактерий как эндогенного фактора риска развития инфекции после эндопротезирования крупных суставов. На основании проведенных исследований установлено, что выявление в синовиальной жидкости и фрагментах синовиальной оболочки ДНК *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* и *Enterobacteriaceae* у пациентов с клиническими признаками инфекции является микробиологическим этиологическим фактором ППИ. Изучен микробный состав биоценозов верхних дыхательных путей, урогенитального и желудочно-кишечного трактов: диагностически значимым критерием для отнесения пациента к группе риска по ППИ является определение концентрации ДНК условно-патогенного микроорганизма в исследуемом биотопе — $1,0 \times 10^4$ копий/мл при наличии клинической картины воспалительного процесса в этом биотопе.

Ключевые слова: перипротезная инфекция, эндопротезирование, крупные суставы, полимеразная цепная реакция, условно-патогенные микроорганизмы

Для цитирования:

Лямцева А. К., Костюк С. А.,
Полуян О. С. Определение роли
условно-патогенных микроорга-
низмов *Staphylococcus spp.*,
Streptococcus spp. и *Enterobacteriaceae*
в этиологии перипротезной ин-
фекции после эндопротезирования
крупных суставов. *Современные
направления в биомедицине.*
2025;1(1):31—50.
<https://doi.org/10.5922/ATB-2025-1-1-3>

Поступила
21.04.2025 г.
Прошла рецензирование
04.06.2025 г.
Принята к печати
05.06.2025 г.
Опубликована
15.07.2025 г.

© Лямцева А. К., Костюк С. А.,
Полуян О. С., 2025



Original research article

DETERMINATION OF THE ROLE OF OPPORTUNISTIC MICROORGANISMS *STAPHYLOCOCCUS SPP.*, *STREPTOCOCCUS SPP.* AND *ENTEROBACTERIACEAE* IN THE ETIOLOGY OF PERIPROSTHETIC INFECTION AFTER ENDOPROSTHETICS OF LARGE JOINTS

A. K. Lyamtseva*, S. A. Kostiuk, O. S. Poluyan

Research Laboratory of the Research Institute of Experimental
and Clinical Medicine, Belarusian State Medical University,
220083, Minsk, Belarus

* Correspondence: annaliantsava@gmail.com.

Abstract. Periprosthetic joint infection (PJI) is a serious complication of large joint arthroplasty, often necessitating repeated surgical interventions and prolonged antimicrobial therapy. Polymerase chain reaction (PCR) offers significant advantages in the aetiological diagnosis of PJI, namely rapid result acquisition and high sensitivity and specificity. This study aims to use real-time PCR to determine the role of *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, and *Enterobacteriaceae* as microbial aetiological agents of PJI, and to examine their presence in the biocenoses of the upper respiratory, urogenital, and gastrointestinal tracts in patients with PJI, in order to assess the potential role of opportunistic bacteria as endogenous risk factors for infection following large joint arthroplasty.

The findings confirm that the detection of *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* and *Enterobacteriaceae* DNA in synovial fluid and synovial membrane fragments in patients with clinical signs of infection serves as a microbiological indicator of PJI. Furthermore, the microbial composition of the upper respiratory, urogenital and gastrointestinal biocenoses is analysed. A diagnostically significant criterion for identifying patients at risk of PJI is the detection of opportunistic microorganism DNA at concentrations of $\geq 1.0 \times 10^4$ copies/ml in the study biotope, accompanied by clinical evidence of local inflammation.

Keywords: periprosthetic infection, endoprosthetics, large joints, polymerase chain reaction, opportunistic microorganisms

To cite this article:

Lyamtseva A. K., Kostiuk S. A.,
Poluyan O. S. Determination of the
role of opportunistic microorganisms
Staphylococcus spp., *Streptococcus spp.*
and *Enterobacteriaceae* in the etiology
of periprosthetic infection after endo-
prosthetics of large joints. *Advanced
targets in Biomedicine*. 2025;1(1):31–50.
<https://doi.org/10.5922/ATB-2025-1-1-3>

Received
21.04.2025
Revised
04.06.2025
Accepted
05.06.2025
Published
15.07.2025

© Lyamtseva A. K., Kostiuk S. A.,
Poluyan O. S., 2025

Введение

Перипротезная инфекция (ППИ) суставов является серьезным осложнением, встречающимся в 1—9 % случаев первичного эндопротезирования, что связано с тяжестью клинического проявления и необходимостью применения сложных междисциплинарных стратегий лечения [1]. Хотя риск инфицирования эндопротеза у пациентов, перенесших замену суставов, можно считать низким, высокая частота проведения этих процедур преобразует сочетание низких рисков в существенное бремя инфекции. ППИ представляет собой осложнение, связанное также с высокими медицинскими и социальными затратами.

Концептуальным диагностическим приемом для подтверждения ППИ, ассоциированным с инфицированием, является выделение микроорганизма в аспирате из полости сустава или полученного хирургическим путем околопротезного биологического материала. Другими факторами, подтверждающими ППИ сустава, выступают наличие свищевого хода, сообщающегося с суставной щелью, расхождение раны, гной вокруг сустава без альтернативного объяснения, расшатывание протеза, повышенное количество лейкоцитов в синовиальной жидкости с преобладанием нейтрофилов и повышенные показатели лабораторных маркеров воспаления, таких как С-реактивный белок (СРБ), скорость оседания эритроцитов (СОЭ), провоспалительных цитокинов. При этом важно учитывать, что невозможность идентификации возбудителя классическим бактериологическим методом не исключает присутствие микроорганизмов в тканях пораженного сустава [2; 3].

Можно предположить, что ППИ после эндопротезирования крупных суставов может быть вызвана экзогенным или эндогенным инфицированием, ассоциированным с биологической транслокацией из зон их физиологической локализации. В зависимости от микробной вирулентности возбудителей ППИ может проявиться рано в виде острой инфекции с появлением характерных жалоб и симптомов в течение первых четырех недель после имплантации, в виде хронической инфекции — от четырех недель до года, либо отсрочено в виде затяжной инфекции (острая гематогенная инфекция) — через год и более. Ранняя острая и хроническая инфекции проявляются четкими местными и системными признаками воспаления и вызываются преимущественно высоковирулентными возбудителями (например, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.*, *Enterococcus spp.*). Отсроченные затяжные инфекции проявляются такими симптомами, как боль в суставах и раннее расшатывание, и вызываются низковирулентными микроорганизмами (например, коагулазонегативными *Staphylococcus* или видами *Cutibacterium*) [4].

Для точной этиологической диагностики ППИ суставов необходимо определить наиболее информативные методы исследований с высокими показателями диагностической и аналитической чувствительности и специфичности. Использование молекулярно-генетической технологии на основе ПЦР в этиологической диагностике ППИ имеет значительное преимущество, заключающееся в экспресс-варианте получения результата и более высокой чувствительности и специфичности, чем традиционные бактериологические методы, что особенно важно для обследования пациентов, ранее получавших противомикробные препараты.

Цель исследования — с использованием метода ПЦР в режиме реального времени установить роль *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* и *Enterobacteriaceae* как микробного этиологического фактора ППИ; изучить присутствие *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* и *Enterobacteriaceae* в биоценозах верхних дыхательных путей, урогенитального и желудочно-кишечного трактов у пациентов с ППИ для определения условно-патогенных бактерий как эндогенного фактора риска развития инфекции после эндопротезирования крупных суставов.

Материалы и методы

Исследование проводилось на базе Научно-исследовательской лаборатории Научно-исследовательского института экспериментальной и клинической медицины учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет» (Минск, Республика Беларусь).

Проведение исследования и форма информированного согласия от пациентов, включенных в исследование, одобрена Комитетом по биомедицинской этике учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет» от 28.03.2025 № 7.

В основную группу исследования были включены 108 пациентов с признаками ППИ обоого пола в возрасте от 40 до 60 лет, которым в УЗ «Минская областная клиническая больница» было проведено первичное эндопротезирование тазобедренного или коленного сустава. Наибольшую группу составили пациенты с ППИ тазобедренного сустава — 71 (65,7 %, ДИ: 56,0—74,6 %) наблюдение; пациенты с ППИ коленного сустава — в 37 (34,3 %, ДИ: 25,4—44,0 %) наблюдениях. Контрольную группу составили 50 пациентов без признаков ППИ после эндопротезирования тазобедренного или коленного сустава.

Дифференциальными критериями включения пациентов после эндопротезирования тазобедренного или коленного сустава в основную группу были следующие:

1. Локальный отек тканей, болезненность при пальпации, местное повышение температуры, гиперемия кожных покровов, нарушение функции тазобедренного или коленного суставов.

2. Жалобы на повышение температуры тела, острое появление боли или любая хроническая боль в области эндопротеза на любом сроке после имплантации в первые несколько лет после установки эндопротеза, особенно при полном отсутствии безболевого периода после операции, проблемы с заживлением послеоперационной раны, поверхностная или глубокая инфекция.

3. Наличие свищевого хода, связанного с костью или имплантатом:

- патологический канал в мягких тканях между костью или эндопротезом сустава и внешней средой;

- подтверждение наличия свищевого хода сообщением с внешней средой путем прямой визуализации кости или протеза посредством фистулографии, УЗИ, КТ или МРТ.

4. Наличие классических клинических симптомов воспаления (ограниченная припухлость, локальная болезненность, местное повышение температуры тканей, гиперемия кожи, нарушение функции) в совокупности с признаками синдрома системной воспалительной реакции, характеризующимся наличием как минимум двух из четырех клинических признаков: 1) температура выше 38 °C или ниже 36 °C; 2) частота сердечных сокращений более 90 уд/мин; 3) частота дыхания более 20 дыханий в мин; 4) количество лейкоцитов выше 12×10^9 или меньше 4×10^9 или количество незрелых форм нейтрофилов превышает 10 %.

5. Наличие септического артрита смежных суставов, особенно в случаях непосредственного контакта имплантата и анатомических структур сустава, вследствие инфицирования синтезирующего устройства.

6. Сочетанное превышение пороговых уровней в сыворотке крови 10 мг/л для СРБ и 30 мм/ч для СОЭ у пациентов с клиническими признаками ППИ (лихорадка, необъяснимая боль в месте артропластики, расшатывание эндопротеза и т. д.).

7. Превышение содержания в синовиальной жидкости лейкоцитов более 3000 клеток/мкл и долей палочкоядерных нейтрофилов более 70 %.

8. Рентгенологически подтвержденное расшатывание компонентов эндопротеза. Рентгенологическую оценку прочности фиксации эндопротеза осуществ-

вляли на основании следующих критериев: миграция имплантата, степень остеоинтеграции и реакции костной ткани на эндопротез. Рентгенологическим признаком развития расшатывания компонентов эндопротеза было наличие участков резорбции костной ткани. На рисунке 1 представлена общая схема эксперимента.

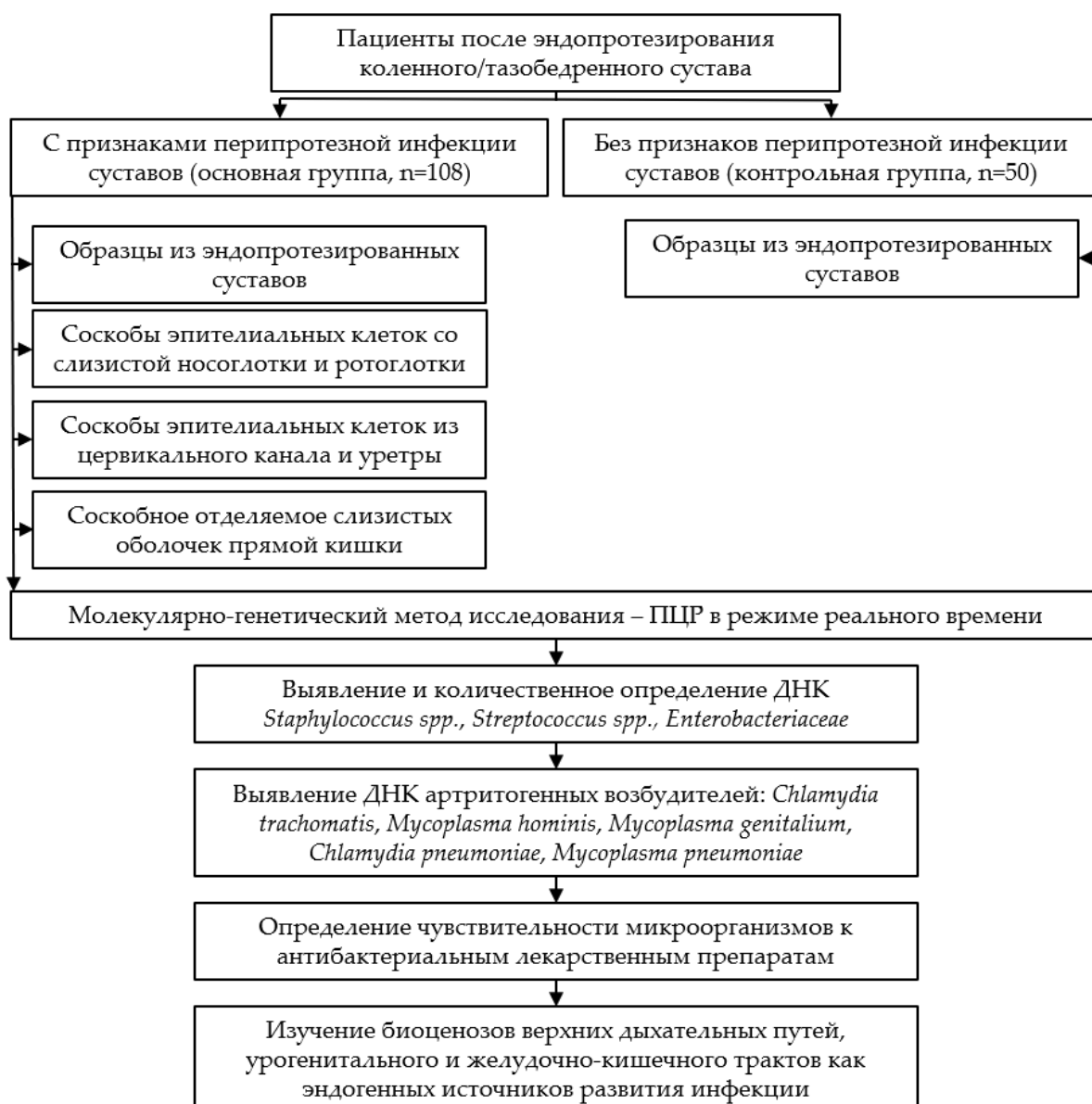


Рис. 1. Дизайн эксперимента

Fig. 1. Experiment design

Для получения образцов из полости суставов использовали разработанную методику артроскопической синовиальной биопсии, трепан-биопсии коленного / тазобедренного сустава из минимально-инвазивных доступов под контролем электронно-оптического преобразователя (ЭОП) навигации. Соскобный материал со слизистой носоглотки и ротоглотки получали с использованием стерильных ватных тампонов на пластиковой основе. Для получения соскобного материала из цервикального канала использовали цервикальные цитощетки, из уретры — одноразовые ложки Фолькмана. Соскобное отделяемое

слизистых оболочек прямой кишки получали с использованием специальных зондов на пластиковой основе. Полученный материал помещали в пробирку типа эппендорф объемом 1,5 мл, содержащую 200 мкл транспортной среды («АртБиоТех», РБ). Пробирки замораживали и оставляли для хранения при температуре – 20 °С.

В качестве биологического материала из полости сустава в исследовании использовали фрагменты синовиальной оболочки и аспираты из полости пораженного сустава (синовиальная жидкость). Выделение ДНК из синовиальной жидкости проводили с использованием набора реагентов «АртДНК Легкий» («АртБиоТех», РБ). Для выделения ДНК из фрагментов синовиальной оболочки применяли предварительную гомогенизацию в течение 3 мин (частота 10/с) с участием гомогенизатора «TissueLyser II» (Qiagen), с последующей экстракцией нуклеиновых кислот набором реагентов «АртДНК Легкий» («АртБиоТех», РБ).

Для определения степени чистоты полученной ДНК проводили спектрофотометрический анализ («NanoDrop 1000», «Thermo Fisher Scientific»), при этом устанавливали отношение поглощения на длинах волн 260 и 280 нм ($A_{260/280}$).

Для контроля выделения ДНК и отсутствия ингибитора ПЦР ген β -глобина человека амплифицировали для каждого образца с праймерами β GloF (прямой, 5'-GAAGAGCCCAAGGACAGGTAC-3') и β GloR (обратный, 5'-GGAAAATAGACCAATAGGCAG-3'). Состав амплификационной смеси включал 12,5 мкл «2X премикс для ПЦР-РВ» («Прайтех», РБ); 1,1 мкл смеси эквивалентных концентраций праймеров (прямого и обратного); 1,0 мкл интеркалирующего красителя ZUBR Green-1; 7,5 мкл воды и 3 мкл выделенной ДНК. Программа амплификации включала следующие стадии: 1 цикл: 94 °С — 5 мин; 35 циклов: 94 °С — 30 с, 55 °С — 30 с, 72 °С — 30 с, финальная элонгация при 72 °С в течение 10 мин. Для проведения ПЦР применяли амплификатор «Rotor-Gene-3000» («Corbett research», Австралия).

ПЦР исследования по выявлению и количественному определению ДНК условно-патогенной флоры рода *Staphylococcus spp.*, рода *Streptococcus spp.* и семейства *Enterobacteriaceae* проводили с применением набора реагента «АмплиПрайм Флороскрин-Аэробы» («АмплиПрайм», РФ). Для выявления и количественного определения ДНК метициллин-чувствительного и метициллин-резистентного *Staphylococcus aureus* и метициллин-резистентных коагулазонегативных *Staphylococcus spp.* использовали набор «АмплиСенс MRSA-скрин-титр-FL» («АмплиСенс», РФ). Дифференциальную диагностику в качественном формате выявленной условно-патогенной флоры семейства *Enterobacteriaceae* (выявление ДНК *Escherichia coli*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*, *Serratia spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis/faecium*) проводили с использованием набора реагентов «Септоскрин» («Литех», РФ). Для изучения частоты генов резистентности к антибиотикам методом ПЦР применяли набор реагентов «Резистом комплекс ESKAPE-V» («Литех», РФ). Амплификацию проводили на термоциклере «Rotor-Gene-3000» («Corbett research», Австралия).

Для изучения спектра облигатно-патогенных микроорганизмов были выбраны *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* как одни из наиболее часто выявляемых артритогенных возбудителей при воспалительной артропатии суставов [5]. Полученную ДНК использовали для постановки ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с применением наборов реагентов «АртТест Хламидия», «АртТест Микоплазма Н», «АртТест Микоплазма Г» («АртБиоТех», РБ) и «АмплиСенс *Mycoplasma pneumoniae* / *Chlamydophila pneumoniae*» («АмплиСенс», РФ). Амплификацию проводили на термоциклере «Rotor-Gene-3000» («Corbett research», Австралия).

Для качественных исследований результаты интерпретировали на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции с пороговой ли-

нией, установленной на уровне экспоненциального подъема кривой, что определяло наличие (или отсутствие) для искомой ДНК-мишени значения порогового цикла C_t в соответствующей графе таблицы результатов программного обеспечения прибора. При проведении количественных исследований определяли концентрации ДНК искомых возбудителей относительно входящих в состав тест-систем стандартов.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась при помощи программы «STATISTICA 8.0» («StatSoft», США). Для тестирования количественных данных на подчинение закону нормального распределения использовался критерий Колмогорова — Смирнова. Данные не подчинялись закону нормального распределения, что позволило применить для статистической обработки непараметрические методы. Парные сравнения независимых выборок по количественным характеристикам проводили с использованием U-критерия Манна — Уитни, для представления полученных данных использовали показатели медианы (Me) и процентилей (Q_{25}/Q_{75}). Анализ категориальных признаков проводили с помощью точного критерия Фишера (двусторонний) в таблице сопряженности 2×2 . При уровне значимости $p < 0,05$ различия считались статистически достоверными.

Для описания частот выявления признака приводили абсолютные (n) значения. Доверительные интервалы определяли методом Клоппера — Пирсона (95 % ДИ) в онлайн-системе <https://epitools.ausvet.com.au/ciproportion>.

Результаты

Возраст пациентов основной группы на момент обследования составил 59 (49/68) лет. В обследуемой группе пациентов удельный вес мужчин был 62,04 % (ДИ: 52,19—71,20 %, $n = 67$), женщин — 37,96 % (ДИ: 28,80—47,81 %, $n = 41$). Возраст обследованных пациентов контрольной группы — 47 (42/57) лет, удельный вес мужчин — 64 % (ДИ: 49,19—77,08 %, $n = 32$), женщин — 36 % (ДИ: 22,92—50,81 %, $n = 18$).

На основании изучения данных анамнеза пациентов с ППИ установлено, что первичное эндопротезирование было проведено по следующим показаниям: коксартроз ($n = 62$, 57,41 %, ДИ: 47,53—66,87 %); гонартроз ($n = 36$, 33,33 %, ДИ: 24,55—43,05 %); посттравматический артроз ($n = 6$, 5,56 %, ДИ: 2,07—11,70 %); анкилоз ($n = 4$, 3,70 %, ДИ: 1,02—9,21 %).

В контрольной группе пациентов после эндопротезирования коленного, тазобедренного суставов без ППИ первичное эндопротезирование было проведено вследствие коксартроза у 31 пациента (62,00 %, ДИ: 47,17—75,35 %), деформирующего гонартроза — у 13 (26,00 %, ДИ: 14,63—40,34 %), на фоне посттравматического артроза и анкилоза — у 4 (8,00 %, ДИ: 2,22—19,23 %) и 2 (4,00 %, ДИ: 0,49—13,71 %) пациентов соответственно.

Исходя из данных анамнеза пациентов основной и контрольной групп были выделены потенциальные факторы риска развития ППИ в области оперативного вмешательства:

- предыдущие оперативные вмешательства в анамнезе;
- хронические сопутствующие заболевания;
- поливалентная аллергия;
- выделения в области хирургического разреза, продолжающиеся более 72 ч;
- острая или хроническая боль в области эндопротеза;
- сопутствующие заболевания.

Для оценки количества и качества выделенной ДНК из синовиальной жидкости набором реагентов «АртДНК Легкий» и из фрагментов синовиальной оболочки набором реагентов «АртСпин» проводили сравнение значений по-

казателя $A_{260/280}$, а также значений пороговых циклов (Ct) при амплификации house-keeping-гена β -глобина человека с использованием U-критерия Манна — Уитни (табл. 1).

Таблица 1

Значения соотношения $A_{260/280}$ и пороговых циклов, полученные при выделении ДНК

Table 1

$A_{260/280}$ ratios and threshold cycle values from DNA extraction

Показатель	«АртДНК Легкий», Ме (Q_{25}/Q_{75})	«АртСпин», Ме (Q_{25}/Q_{75})
$A_{260/280}$	1,75 (1,64/1,85)	1,78 (1,71/1,88)
Значение Ct	21,54 (19,42/23,06)	23,61 (21,51/26,01)

Таким образом, по показателям достоверных отличий с использованием методов статистического анализа выявлено не было ($p > 0,05$). Значение показателя $A_{260/280}$ для ДНК, выделенной набором реагентов «АртДНК легкий» и «АртСпин», близко к 1,8, что указывает на отсутствие примесей белка и других ингибиторов. Амплификация гена β -глобина человека наблюдалась во всех образцах биологического материала, что также говорит об отсутствии ингибиторов ПЦР. Полученные данные позволяют сделать вывод, что как ДНК, выделенную из синовиальной жидкости набором реагентов «АртДНК Легкий», так и ДНК, выделенную из фрагментов синовиальной оболочки набором реагентов «АртСпин», можно использовать для дальнейших исследований (табл. 1).

Результаты молекулярно-биологической идентификации ДНК условно-патогенных микроорганизмов в синовиальной жидкости и фрагментах синовиальной оболочки

При изучении видового состава условно-патогенных бактерий была установлена частота их выявления в синовиальной жидкости и фрагментах синовиальной оболочки у пациентов основной и контрольной группы метом ПЦР-РВ (табл. 2). Для сравнения частоты выявления ДНК возбудителей ППИ в исследуемых группах использовали критерий Фишера в таблице сопряженности 2×2 .

Таблица 2

Результаты выявления условно-патогенных возбудителей ППИ после эндопротезирования тазобедренного / коленного суставов у пациентов исследуемых групп

Table 2

Results of the identification of opportunistic pathogens involved in PJI following hip or knee arthroplasty in treatment group patients

Возбудитель	Основная группа (n = 108), n (95 % ДИ)	Контрольная группа (n = 50), n (95 % ДИ)
Грамположительные бактерии	76 (70,4; 60,8—78,8)*	2 (4,0; 0,5—13,7)
Staphylococcus spp.	47 (61,8; 50,0—72,8)	2 (100,0; 15,8—100,0)
Метициллинчувствительный Staphylococcus aureus (MSSA)	6 (12,8; 4,8—25,7)	0 (0,0)

Окончание табл. 2

Возбудитель	Основная группа (n = 108), n (95 % ДИ)	Контрольная группа (n = 50), n (95 % ДИ)
Метициллинрезистентный <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	11 (23,4; 12,3—38,0)	0 (0,0)
Метициллинрезистентный коагулазонегативный <i>Staphylococcus spp.</i> (MRCoNS)	16 (34,0; 20,9—49,3)	2 (100,0; 15,8—100,0)
<i>Streptococcus spp.</i>	21 (27,6; 18,0—39,1)	0 (0,0)
<i>Enterococcus faecalis</i> / <i>faecium</i>	8 (10,5; 4,7—19,7)	0 (0,0)
Грамотрицательные бактерии	10 (9,3; 4,5—16,4)*	0 (0,0)
<i>Enterobacteriaceae</i>	10 (100,0; 69,2—100,0)	0 (0,0)
<i>Escherichia coli</i>	2 (20,0; 2,5—55,6)	0 (0,0)
<i>Enterobacter spp.</i> , <i>Klebsiella spp.</i>	4 (40,0; 12—2—73,8)	0 (0,0)
<i>Proteus spp.</i>	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>Serratia spp.</i>	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0 (0,0)	0 (0,0)
Полимикробные**	16 (14,8; 8,7—22,9)*	0 (0,0)

Примечания:

* различия статистически значимы при $p < 0,05$;

** относится к числу случаев полимикробной ППИ: конкретные вовлеченные микроорганизмы отражены в соответствующих категориях.

Дифференциальная диагностика выявленных возбудителей рода *Staphylococcus spp.* представлена в таблице 3.

Таблица 3

Метициллинорезистентность *Staphylococcus spp.* при ППИ суставов

Table 3

Methicillin resistance of *Staphylococcus spp.* in PJI

<i>Staphylococcus spp.</i>	Основная группа				Контрольная группа (n = 50)	
	Тазобедренный сустав (n = 71)		Коленный сустав (n = 37)			
	n	95 % ДИ	n	95 % ДИ	n	95 % ДИ
MSSA	3	4,2 (0,8—11,9)	2	5,4 (0,6—18,19)	0	0,0
MRSA	6	8,5 (3,2—17,5)	5	13,5 (0,5—28,77)	0	0,0
MRCoNS	9	12,7 (6,0—22,7)	7	18,9 (8,0—35,2)	2	4,0 (0,5—13,7)

С применением статистического анализа (точный критерий Фишера) было установлено, что выявление грамположительных ($p < 0,05$) и грамотрицательных ($p < 0,05$) бактерий в биологическом материале пациентов достоверно ассоциировано с наличием ППИ крупных суставов. Установлены статистически достоверные отличия ($p < 0,05$) по частоте выявления полимикробной инфекции между основной и контрольной группами (табл. 2).

В 16 образцах биологического материала основной группы пациентов выявленные возбудители присутствовали в составе полимикробной инфекции: ДНК *Staphylococcus spp.* + *Streptococcus spp.* — в 11 образцах (68,8 %, ДИ: 41,3—89,0 %), ДНК *Staphylococcus spp.* + *Enterobacteriaceae* были выявлены в 5 образцах (31,3 %, ДИ: 12,3—55,6 %).

ДИ: 11,0—58,7), что дает основание предполагать, что они формируют биологические сообщества в виде биопленок, а значит, обладают уникальной способностью минимизировать влияние защитных факторов организма человека.

На следующем этапе нами были проведены молекулярно-генетические исследования по определению количественных уровней (концентраций) ДНК рода *Streptococcus spp.*, рода *Staphylococcus spp.* и семейства *Enterobacteriaceae* во всех образцах биологического материала, в которых при осуществлении качественных исследований детектировалась ДНК указанных возбудителей (табл. 4).

Таблица 4

**Количественные данные определения концентраций ДНК
Staphylococcus spp., *Streptococcus spp.* и *Enterobacteriaceae*
в биологическом материале основной группы исследования**

Table 4

**Quantitative data for determination of *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*
and *Enterobacteriaceae* DNA concentrations in biological material
from the treatment group**

Биологический материал	Концентрация ДНК <i>Staphylococcus spp.</i> , Ме (Q_{25}/Q_{75}) копий/мл			Концентрация ДНК <i>Streptococcus spp.</i> , Ме (Q_{25}/Q_{75}) копий/мл	Концентрация ДНК <i>Enterobacteriaceae</i> , Ме (Q_{25}/Q_{75}) копий/мл
	MSSA	MRSA	MRCoNS		
Фрагменты синовиальной оболочки	6,12 (5,40/8,71) $\times 10^4$			6,20 (5,19/7,62) $\times 10^3$	7,16 (6,01/8,34) $\times 10^3$
	8,37 (6,98/9,72) $\times 10^3$	7,12 (6,26/8,23) $\times 10^3$	9,43 (8,13/10,59) $\times 10^3$		
Синовиальная жидкость	4,80 (3,27/5,91) $\times 10^3$			5,49 (4,43/7,09) $\times 10^2$	6,82 (5,08/7,35) $\times 10^3$
	7,20 (6,24/8,09) $\times 10^2$	7,51 (6,34/8,32) $\times 10^2$	8,18 (7,64/9,28) $\times 10^3$		

Использование непараметрического критерия Манна — Уитни позволило сделать вывод об отсутствии статистически достоверных различий по концентрации ДНК условно-патогенных возбудителей для исследуемого биологического материала ($p > 0,05$).

При изучении частоты выявления ДНК облигатно-патогенной флоры (*Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*) в синовиальной жидкости и фрагментах синовиальной оболочки основной и контрольной группы были получены отрицательные результаты во всех исследуемых образцах.

Результаты выявления молекулярно-генетических маркеров устойчивости к антибактериальным лекарственным препаратам

Проведена идентификация генов антибиотикорезистентности в клинических образцах для оценки вирулентности условно-патогенных бактерий, данные представлены в таблице 5.

Таблица 5

**Результаты выявления генов антибиотикорезистентности
условно-патогенных бактерий, участвующих в этиологии ППИ**

Table 5

**Results of the identification of antibiotic resistance genes
in opportunistic bacteria involved in the aetiology of PJI**

Микроорганизм / Антибиотик	Ген устойчивости	Присутствие гена, n (95 % ДИ)
<i>Staphylococcus aureus</i> и <i>Staphylococcus species</i> (n = 47)		
Бета-лактамы	mecA	28 (59,6; 44,3—73,6)
<i>Escherichia coli</i> (n = 2)		
Цефалоспорины	blaCTX-M	0 (0,0; 0,0—84,2)
	blaOXA10	1 (50,0; 1,3—98,7)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Enterobacter species</i> (n = 4)		
Карбапенемы	blaKPC	0 (0,0; 0,0—60,2)
	blaOXA48-like	0 (0,0; 0,0—60,2)
Пенициллины	blaGES	1 (25,0; 0,6—80,6)
Цефалоспорины	blaDHA	0 (0,0; 0,0—60,2)
<i>Streptococcus species</i> (n = 21)		
Макролиды, линкозамиды, стрептограмин В	Mef	6 (28,6; 11,3—52,2)
	ErmB	2 (9,5; 1,2-30,4)
<i>Enterococcus faecalis/Enterococcus faecium</i> (n = 8)		
Гликопептиды	VanA/VanB	0 (0,0; 0,0—36,9)

Генетическое нацеливание на бактериальные гены, вызывающие лекарственную устойчивость, имеет важное значение для своевременной коррекции антимикробной терапии.

**Результаты молекулярно-биологической идентификации
микробного состава по спектру условно-патогенных микроорганизмов
в исследуемых биоценозах**

Биоценоз верхних дыхательных путей

При исследовании методом ПЦР в режиме реального времени в биоценозе верхних дыхательных путей, а также в образцах из полости исследуемых суставов у пациентов с ППИ после эндопротезирования коленного / тазобедренного сустава в 44 (40,7 %, ДИ: 31,4—50,6 %, n = 108) образцах было подтверждено присутствие ДНК следующих микроорганизмов: *Staphylococcus spp.* в 63,6 %, ДИ: 47,8—77,6 % (n = 28) случаев, в том числе MSSA — 14,3 %, ДИ: 4,0—32,7 % (n = 4) случаев, MRSA — 17,9 %, ДИ: 6,1—36,9 % (n = 5) случаев и MRCoNS — 39,3 %, ДИ: 21,5—59,4 % (n = 11) случаев; *Streptococcus spp.* в 36,4 %, ДИ: 22,4—52,2 % (n = 16) случаев.

В исследуемом биоценозе ДНК данных микроорганизмов выявлялись в диагностически значимых концентрациях (Me ($Q_{25/75}$)) *Staphylococcus spp.* — 4,86 (2,59/6,37) $\times 10^4$ копий/мл, в том числе MSSA — 4,95 (3,74/8,57) $\times 10^4$ копий/мл, MRSA — 5,34 (3,91/8,44) $\times 10^4$ копий/мл и MRCoNS — 5,58 (3,81/8,72) $\times 10^4$ копий/мл; *Streptococcus spp.* в концентрации 5,52 (3,87/8,10) $\times 10^4$ копий/мл.

Биоценоз урогенитального тракта

При исследовании методом ПЦР подтверждено присутствие ДНК условно-патогенных микроорганизмов в 17 (15,7 %, ДИ: 9,4—24,0 %, $n=108$) образцах как в соскобах эпителиальных клеток из цервикального канала и уретры, так и в биологическом материале исследуемых суставов у пациентов основной группы: *Staphylococcus spp.* в 47,1 %, ДИ: 23,0—72,2 % ($n=8$) случаев, в том числе MRSA — 62,5 %, ДИ: 24,5—91,5 % ($n=5$) случаев; *Streptococcus spp.* в 23,5 %, ДИ: 6,8—49,9 % ($n=4$) случаев; *Enterococcus faecalis/faecium* — 29,4 %, ДИ: 10,3—56,0 % ($n=5$) случаев.

В биоценозе урогенитального тракта ДНК данных микроорганизмов определялись в следующих концентрациях ($Me (Q_{25/75})$) *Staphylococcus spp.* — $6,95 (4,27/9,06) \times 10^4$ копий/мл, в том числе MRSA — $4,62 (2,31/6,57) \times 10^4$; *Streptococcus spp.* — $7,05 (5,38/9,23) \times 10^4$ копий/мл.

Биоценоз желудочно-кишечного тракта

У пациентов с ППИ после эндопротезирования коленного/тазобедренного сустава как в биоценозе желудочно-кишечного тракта, так и в образцах из полости исследуемых суставов подтверждено присутствие ДНК аэробных условно-патогенных микроорганизмов в 10 (9,3 %, ДИ: 4,5—16,4 %, $n=108$) образцах: *Enterobacteriaceae* — 60,0 %, ДИ: 26,2—87,8 % ($n=6$) случаев, в том числе *Escherichia coli* — 33,3 %, ДИ: 4,3—77,7 % ($n=2$) случаев и *Enterobacter spp.* / *Klebsiella spp.* — 66,7 %, ДИ: 22,3—95,7 % ($n=4$) случаев; *Staphylococcus spp.* — 40,0 %, ДИ: 12,2—73,8 % ($n=4$) случаев, в том числе MRCoNS — 75,0 %, ДИ: 19,4—99,4 % ($n=3$) случаев.

В исследуемом биоценозе ДНК данных микроорганизмов выявлялись в диагностически значимых концентрациях ($Me (Q_{25/75})$) *Enterobacteriaceae* — $6,57 (5,08/8,71) \times 10^4$ копий/мл; *Staphylococcus spp.* — $5,47 (3,61/7,28) \times 10^4$ копий/мл, в том числе MRCoNS — $4,95 (3,69/7,18) \times 10^4$.

Обсуждение

В нашем исследовании микробный фактор бактериальной этиологии у основной группы пациентов был детектирован в 86 образцах (79,63 % (ДИ: 70,80—86,77 %)) синовиальной жидкости и фрагментах синовиальной оболочки. При этом возбудители выявлялись как в состоянии моноинфекции, так и в виде ассоциаций.

Грамположительные бактерии доминируют в качестве этиологического фактора ППИ тазобедренного и коленного суставов. Это подтверждается преимущественным выявлением ДНК *Staphylococcus spp.*, далее следуют микроорганизмы рода *Streptococcus* и представители семейства *Enterobacteriaceae*. Частоты выявления *Staphylococcus aureus* и коагулазонегативных видов *Staphylococcus spp.* при ППИ тазобедренного/коленного суставов являются относительно равными, когда эти исследования оцениваются в совокупности, но возможно различаются в определенных частных ситуациях в зависимости от пути заражения и времени инициации воспаления после эндопротезирования.

Все эндопротезы суставов остаются восприимчивыми к гематогенному обсеменению из отдаленного первичного очага в течение всего времени их пребывания. Высокая васкуляризация перипротезной ткани подвергает эндопротез наибольшему риску гематогенного инфицирования в первые годы после имплантации. Как правило, у пациентов острое начало клинических симпто-

мов происходит после безболезненного послеоперационного периода [6]. Сообщается, что риск bacteriemia, вызванной *Staphylococcus aureus*, достигает 34 % [7].

Поиск и ликвидация первичного очага необходимы для предотвращения рецидива инфекции. По литературным данным, наиболее частыми первичными очагами являются инфекции кожи и мягких тканей (с доминированием *Staphylococcus aureus*), инфекции дыхательных путей (с доминированием *Streptococcus pneumoniae*), желудочно-кишечные инфекции (с преимущественным участием *Salmonella*, *Bacteroides*, *Streptococcus gallolyticus*) или инфекции мочевыводящих путей (с преимущественным участием *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter spp.*). Гематогенное распространение инфекции может также произойти во время стоматологических процедур — группа бактерий *Streptococcus viridans*. В случае инфицирования внутрисосудистых устройств даже низковирулентные бактерии, такие как *Staphylococcus epidermidis*, могут вызывать гематогенные инфекции [6].

Прямое распространение инфекции происходит либо при прямом контакте между эндопротезом и внешней средой (свищевой ход или открытый перипротезный перелом), либо при распространении из близлежащего инфекционного очага (инфекция мягких тканей).

На основании полученных результатов можно сделать вывод, что верхние дыхательные пути и урогенитальный тракт — эндогенный источник развития ППИ после эндопротезирования крупных суставов в случае инфицирования *Staphylococcus spp.* и *Streptococcus spp.*, желудочно-кишечный тракт — в случае инфицирования возбудителями из семейства *Enterobacteriaceae* при определении данных микроорганизмов в диагностически значимой концентрации. Количественная оценка концентраций ДНК микроорганизмов подтвердила их преимущественный вклад в формирование сообщества микроорганизмов. Исходя из вида микроорганизма, необходимо проводить тщательное диагностическое обследование для выявления источника инфекции и назначения антимикробного лечения [8].

По литературным данным, *Staphylococcus aureus* является серьезным патогеном в силу своей вирулентности и частоты встречаемости. В научной публикации Н. Wisplinghoff и соавт. [9] указано, что основная причина ППИ — *Staphylococcus aureus*, который становится одной из частых причин серьезных инвазивных инфекций, включая нозокомиальные и внутрибольничные инфекции кровотока, что впоследствии может привести к ППИ. По мнению G. Jacobsson и соавт. [10], получение гемодиализа, ревматоидный артрит, диабет и колонизация носа *Staphylococcus aureus* связаны с повышенным риском инвазивной инфекции. Соответственно, пациенты с ППИ, вызванной *Staphylococcus aureus*, часто имеют множественные сопутствующие заболевания, при этом диабет регистрируется у 30—40 % [11], а ревматоидный артрит — у 10—20 % [12]. Первичная симптоматика у данной группы пациентов определяется острой инфекцией, однако ряд авторов сообщают о симптомах, сохраняющихся до нескольких лет, что, вероятно, является следствием предыдущих попыток лечения [9; 13]. P. Sendi и соавт. [14] высказали предположение о том, что *Staphylococcus aureus* — вариабельный микроорганизм, склонный к образованию биопленок, поэтому может вызывать более вялотекущую форму после предыдущих попыток лечения.

В группу микроорганизмов, называемую коагулазонегативными *Staphylococcus spp.*, входит целый ряд видов этих бактерий. Многие из них являются повсеместными представителями микробиома человека и обнаруживаются преимущественно на коже. Из-за исторических трудностей с идентификацией конкретных видов этой группы классическим бактериологическим методом в

литературе по ППИ не упоминаются исследования по идентификации и определению отдельных видов микроорганизмов, поэтому их относительная патогенность при ППИ требует проведения дополнительных научных исследований с использованием более современного научного метода — ПЦР-РВ.

Staphylococcus epidermidis — наиболее часто выявляемый представитель этой группы [15]. Данный вид может вызывать ППИ прежде всего благодаря своей способности адгезироваться к материалам эндопротезов и образовывать биопленку [16]. К другим видам, вызывающим ППИ, относятся *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus caprae* и *Staphylococcus lugdunensis*. Эта группа микроорганизмов также становится причиной ППИ суставов, при которой обычно наблюдаются дренаж раны, локальные изменения кожи и боль, при этом у ППИ может быть позднее или отсроченное начало, когда боль является единственным проявлением [1]. Вопрос о том, имеют ли разные виды в этой группе различные клинические проявления или факторы риска, еще предстоит выяснить в дальнейших научных исследованиях.

Streptococcus spp. — разнообразный род бактерий, играющий важную роль в заболеваниях человека, но вызывающий менее 10 % инфекций при эндопротезировании суставов. По данным А. М. Мeehan и соавт. [17], *Streptococcus* групп В и G могут быть наиболее распространенными *Streptococcus spp.*, вызывающими ППИ. Эти инфекции обычно протекают в острой форме, причем по крайней мере у половины пациентов отмечаются лихорадка и системные симптомы. Подобная картина может наблюдаться при инфицировании пациентов бета-гемолитическими *Streptococcus spp.* [18].

Streptococcus группы В чаще всего вызывают ППИ с задержкой или поздним началом, и большинство пациентов имеют одно или несколько сопутствующих соматических заболеваний, включая ожирение, злокачественные опухоли или сахарный диабет [19]. Предполагается, что у многих пациентов инфекция передается гематогенным путем, причем наиболее частыми источниками являются мочеполовой тракт, желудочно-кишечный тракт и кожные покровы [20]. Соответственно, до 50 % пациентов к моменту появления симптомов ППИ могут быть бактерионосителями [18]. Пациенты с ППИ, вызванной *Streptococcus* группы G, часто имеют очаги инфекции кожи. Большинство пациентов с бактериемией, вызванной этим микроорганизмом, — пожилые мужчины с инфекцией кожи [21], что также отмечалось при наблюдении за одной небольшой серией пациентов с ППИ, вызванной *Streptococcus* группы G [18].

Enterococcus spp. — род бактерий из семейства *Enterococcaceae*, редкая причина ППИ. Они обнаруживаются у 12—15 % пациентов с ранним началом ППИ, часто в составе полимикробных инфекций [22]. *Enterococcus* — грамположительный, факультативно анаэробный микроорганизм. Он вызывает различные виды инфекций, в том числе внутрибольничные инфекции, эндокардит, инфекции мочевыводящих путей, а также внутрибрюшные и тазовые инфекции [23].

Как и *Enterococcus spp.*, аэробные грамотрицательные бактерии чаще выявляются на ранних стадиях ППИ, где в некоторых исследованиях они обнаруживаются до 45 % случаев [22; 24]. Они также играют важную роль в развитии полимикробных инфекций [25] и могут быть причиной гематогенной инфекции, которая, как правило, является мономикробной [26]. В большинстве исследований наиболее часто выделяемой аэробной грамотрицательной палочкой является *Escherichia coli* [27—29], также в одном крупном исследовании это была *Pseudomonas aeruginosa* [30]. Большинство остальных возбудителей составляют некишечные *Enterococcus spp.* Вследствие вирулентности многих аэробных грамотрицательных бактерий при инфицировании ими наблюдается острая форма

заболевания. По мнению С. А. Aboltins и соавт. [27], аэробные грамотрицательные бактерии чаще проникают в эндопротез тазобедренного, а не коленного сустава, что, возможно, связано с анатомической близостью тазобедренного сустава к желудочно-кишечному тракту.

Способность расти и сохраняться на поверхности имплантата и околопротезной ткани в виде биопленки представляет собой основной механизм выживания, с помощью которого микроорганизмы оказываются нечувствительны к факторам окружающей для них среды. После первого контакта с имплантатом возбудители адгезируются на его поверхности. В первые часы после контакта многослойная клеточная пролиферация, а также межклеточная адгезия приводят к образованию микроколоний микрофлоры и начальному росту биопленки. Зрелые биопленки формируются в течение четырех недель и представляют собой сложные 3D-сообщества, в которых микроорганизмы одного или нескольких видов живут, сгруппированные вместе в высокогидратированном, самовоспроизводящемся внеклеточном матриксе (слизи). Истощение метаболитических веществ и накопление продуктов жизнедеятельности приводят к тому, что микроорганизмы переходят в латентное, вегетативное или нерастущее (стационарное) состояние. Планктонные бактерии могут отделиться в любой момент, активируя иммунную систему человека, вызывая воспаление, отек, боль и раннее расшатывание имплантата [1].

Таким образом, ассоциированное с ППИ воспаление после эндопротезирования крупных суставов представляет собой прежде всего инфекционно обусловленный процесс, в возникновении которого играют роль представители разных таксономических групп микроорганизмов, следовательно, имеющие различную вирулентность и патогенность. Они могут быть представлены как многочисленной условно-патогенной флорой, так и патогенными возбудителями. Особое значение в последние годы придается наличию ассоциаций возбудителей различных классов и характеристик. В большинстве случаев микрофлора, присутствующая в синовиальной жидкости, получает патогенный потенциал, а условно-патогенная флора становится более вирулентной при активации в данном эпитопе патогенных возбудителей.

Специфический симбиоз человеческого организма с определенными группами микроорганизмов, сформировавшийся в процессе эволюции, в ходе филогенеза преобразовался в единую микроэкологическую систему, гармонично функционирующую в пользу обеих составляющих симбиоза. Нормальную аутофлору человека можно представить как специфический жизненно важный орган, выполняющий чрезвычайно широкий спектр защитных, метаболитических, регуляторных и других функций. Явление бактериальной транслокации заключается в том, что цельные бактериальные клетки преодолевают эпителиальный барьер и попадают в регионарные лимфатические узлы, а затем заселяют несвойственные им ранее места обитания в организме. Следует подчеркнуть, что эпителиоциты в настоящее время рассматриваются не только как барьерные, но и как иммунокомпетентные клетки.

Прорыв в понимании роли условно-патогенных микроорганизмов в формировании ППИ суставов произошел при применении наиболее диагностически точных методик, таких как ПЦР, ПЦР-РВ, секвенирующий ПЦР-анализ.

По нашему мнению, наряду с причинным фактором в развитии воспаления значительную роль играет состояние макроорганизма, а также комплекс внешних условий, которые оказывают влияние на организм одновременно с этиологическим фактором (стрессы, психоэмоциональные нагрузки, воздействие токсических веществ, переохлаждение и другие).

Воспалительный процесс не является только местным процессом. Поскольку организм человека — это единая и целостная высокоорганизованная биологическая структура, то влияние раздражающего и повреждающего фактора не бывает местным, а чаще всего носит системный характер и оказывает влияние на всю его структурную организацию.

Проникновение, размножение и распространение инфекции в большинстве определяется ее патогенными и вирулентными свойствами, а также защитными механизмами макроорганизма.

Большое значение в понимании патогенетических механизмов развития патологического процесса и правильных подходов к его терапии принадлежит выявлению возможных межпопуляционных взаимодействий возбудителей, принадлежащих к различным таксономическим группам, их строения. Эти сведения помогают врачу выбрать правильное направление диагностического поиска и обозначить пути элиминации выявленных возбудителей с учетом морфофункциональных особенностей всех патогенов, представляющих данный эпитоп.

Заключение

На основании проведенных исследований нами установлены этиологические микробиологические факторы ППИ крупных суставов. Ведущую роль в развитии инфекции играет *Staphylococcus spp.* ($n = 47$), доля которого составляет 43,5 %, ДИ: 34,0—53,4 %, остальная флора была представлена *Streptococcus spp.* ($n = 21$) — 19,4 %, ДИ: 12,5—28,2 % случаев и *Enterobacteriaceae* ($n = 10$) — 9,3 %, ДИ: 4,5—16,4 % случаев. В 14,81 % ($n = 16$) случаев у исследованных пациентов выявленные возбудители присутствовали в составе полимикробной инфекции: ДНК *Staphylococcus spp.* + *Streptococcus spp.* — в 11 образцах (10,2 %, ДИ: 5,2—17,5 %), ДНК *Staphylococcus spp.* + *Enterobacteriaceae* были выявлены в 5 образцах (4,6 %, ДИ: 1,5—10,5), что дает основание предполагать, что они формируют биологические сообщества в виде биопленок, а значит, обладают уникальной способностью минимизировать влияние защитных факторов организма человека.

С целью потенциального снижения уровня инфицирования пациентов в предоперационном периоде следует обследовать на наличие признаков продолжающейся инфекции, в частности на наличие симптомов инфекции верхних дыхательных путей, урогенитального или желудочно-кишечного трактов, поскольку это инфекции, которые несут риск эндогенного распространения и последующего развития ППИ суставов. Диагностически значимым критерием для отнесения пациента к группе риска по ППИ является концентрация ДНК условно-патогенного микроорганизма в исследуемом биотопе — $1,0 \times 10^4$ копий/мл при наличии клинической картины воспалительного процесса в этом биотопе.

По нашему мнению, успех лечения данной патологии напрямую зависит от своевременной диагностики ППИ, правильного определения ее типа и идентификации возбудителя, что является определяющим для выбора тактики лечения пациента и назначения эффективной антибактериальной терапии. Таким образом, лечение ППИ — это сложная задача, решение которой требует мультидисциплинарного подхода и дополнительной подготовки врачей, занимающихся диагностикой и лечением данной патологии.

Знание микробиологического спектра основных возбудителей ППИ крупных суставов позволит правильно предположить наиболее вероятные из них, рационально подойти к антибактериальной терапии и сузить спектр используемых антибиотиков, что имеет решающее значение в исходе хирургического лечения ППИ и в снижении уровня стремительно развивающейся резистентности к антимикробным лекарственным средствам.

Финансирование. Это исследование не получало внешнего финансирования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Funding. This study received no external funding.

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

Список литературы

1. Tsikopoulos K., Meroni G. Periprosthetic Joint Infection Diagnosis: A Narrative Review. *Antibiotics* (Basel). 2023, 12, 1485, DOI: 10.3390/antibiotics12101485.
2. Nelson S. B., Pinkney J. A., Chen A. F., Tande A. J. Periprosthetic Joint Infection: Current Clinical Challenges. *Clin. Infect. Dis.* 2023, 77, 34–45, DOI: 10.1093/cid/ciad360.
3. Gazendam A., Wood T. J., Tushinski D., Bali K. Diagnosing Periprosthetic Joint Infection: a Scoping Review. *Curr. Rev. Musculoskelet. Med.* 2022, 15, 219–229, DOI: 10.1007/s12178-022-09751-w.
4. Pellegrini A., Suardi V., Legnani C. Classification and management options for prosthetic joint infection. *Ann. Jt.* 2022, 7, 3, DOI: 10.21037/aoj-20-86.
5. Полуян О. С., Костюк С. А., Бенько А. Н., Герасименко М. А. Особенности микробиологического профиля синовиальной жидкости пациентов с артропатиями коленного сустава. Сборник трудов X Юбилейной международной научно-практической конференции «Молекулярная диагностика», Москва. 2021, 2, 281–282.
6. Rakow A., Perka C., Trampuz A., Renz N. Origin and characteristics of haematogenous periprosthetic joint infection. *Clin. Microbiol. Infect.* 2019, 25, 845–850, DOI: 10.1016/j.cmi.2018.10.010.
7. Li Y., Quan X., Zhou C., Duan X., Nie M., Si H. Risk factors for metachronous periprosthetic joint infection in patients with multiple prosthetic joints: a systematic review and meta-analysis. *J. Orthop. Surg. Res.* 2025, 20, 293, DOI: 10.1186/s13018-025-05694-3.
8. Костюк С. А., Полуян О. С., Лямцева А. К., Бенько А. Н. Особенности микробного состава различных биоценозов у пациентов с перипротезной инфекцией после эндопротезирования крупных суставов. *Биохимия и молекулярная биология.* 2024, 3, 49–56.
9. Wisplinghoff H., Bischoff T., Tallent S. M., Seifert H., Wenzel R. P., Edmond M. B. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin. Infect. Dis.* 2004, 39, 309–317, DOI: 10.1086/421946.
10. Jacobsson G., Dashti S., Wahlberg T., Andersson R. The epidemiology of and risk factors for invasive *Staphylococcus aureus* infections in western Sweden. *Scand. J. Infect. Dis.* 2007, 39, 6–13, DOI: 10.1080/00365540600810026.
11. Egerci O. F., Yapar A., Dogruoz F., Selcuk H., Kose O. Preventive strategies to reduce the rate of periprosthetic infections in total joint arthroplasty; a comprehensive review. *Arch. Orthop. Trauma Surg.* 2024, 144, 5131–5146, DOI: 10.1007/s00402-024-05301-w.

12. Raval P., Coolican M. Preoperative, intraoperative, and postoperative concepts to prevent infection for unicompartmental knee arthroplasty. *J. ISAKOS*. 2024, 9, 100345, DOI: 10.1016/j.jisako.2024.100345.
13. de Buys M., Moodley K., Cakic J. N., Pietrzak J. R. T. Staphylococcus aureus colonization and periprosthetic joint infection in patients undergoing elective total joint arthroplasty: a narrative review. *EFORT Open Rev*. 2023, 8, 680—689, DOI: 10.1530/EOR-23-0031.
14. Sendi P., Rohrbach M., Graber P., Frei R., Ochsner P. E., Zimmerli W. Staphylococcus aureus small colony variants in prosthetic joint infection. *Clin. Infect. Dis*. 2006, 43, 961—967, DOI: 10.1086/507633.
15. Widerström M., Stegger M., Johansson A., Gurram B. K., Larsen A. R., Wallinder L., Edebro H., Monsen T. Heterogeneity of Staphylococcus epidermidis in prosthetic joint infections: time to reevaluate microbiological criteria? *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*. 2022, 41, 87—97, DOI: 10.1007/s10096-021-04352-w.
16. Gatti M., Barnini S., Guarracino F., Parisio E. M., Spinicci M., Viaggi B., D'Arienzo S., Forni S., Galano A., Gemmi F. Orthopaedic Implant-Associated Staphylococcal Infections: A Critical Reappraisal of Unmet Clinical Needs Associated with the Implementation of the Best Antibiotic Choice. *Antibiotics (Basel)*. 2022, 11, 406, DOI: 10.3390/antibiotics11030406.
17. Meehan A. M., Osmon D. R., Duffy M. C., Hanssen A. D., Keating M. R. Outcome of penicillin-susceptible streptococcal prosthetic joint infection treated with debridement and retention of the prosthesis. *Clin. Infect. Dis*. 2003, 36, 845—849, DOI: 10.1086/368182.
18. Löwbeer N., Stegger M., Söderquist B. Genomic characterization of beta-haemolytic streptococci isolated from prosthetic joint infections. *APMIS*. 2023, 131, 189—196, DOI: 10.1111/apm.13299.
19. Sendi P., Christensson B., Uckay I., Trampuz A., Achermann Y., Boggian K., et al. Group B streptococcus in prosthetic hip and knee joint-associated infections. *Journal of Hospital Infection*. 2011, 79, 64—69, DOI: 10.1016/j.jhin.2011.04.022.
20. Kherabi Y., Zeller V., Kerroumi Y., Meyssonier V., Heym B., Lidove O., et al. Streptococcal and Staphylococcus aureus prosthetic joint infections: are they really different? *BMC Infect. Dis*. 2022, 22, 555, DOI: 10.1186/s12879-022-07532-x.
21. Lucenti L., Testa G., Caldaci A., Sammartino F., Cicio C., Ilardo M., et al. Preoperative Risk Factors for Periprosthetic Joint Infection: A Narrative Review of the Literature. *Healthcare (Basel)*. 2024, 12, 666, DOI: 10.3390/healthcare12060666.
22. Cobo J., Miguel L. G. S., Euba G., Rodríguez D., García-Lechuz J. M., Riera M. et al. Early prosthetic joint infection: outcomes with debridement and implant retention followed by antibiotic therapy. *Clinical Microbiology and Infection*. 2011, 17, 1632—1637, DOI: 10.1016/S0950-9343(02)01117-8.
23. Yoshino Y. Enterococcus casseliflavus Infection: A Review of Clinical Features and Treatment. *Infect. Drug Resist*. 2023, 16, 363—368, DOI: 10.2147/IDR.S398739.
24. da Silva R. B., Salles M. J. Outcomes and Risk Factors in Prosthetic Joint Infections by multidrug-resistant Gram-negative Bacteria: A Retrospective Cohort Study. *Antibiotics (Basel)*. 2021, 10, 340, DOI: 10.3390/antibiotics10030340.
25. Valenzuela M. M., Averkamp B. J., Odum S. M., Rowe T. M., Fehring T. K. Polymicrobial Colonization of Prosthetic Joint Infections Treated with Open Wound Management. *J. Arthroplasty*. 2022, 37, 653—656, DOI: 10.1016/j.arth.2022.03.016.
26. Migliorini F., Weber C. D., Bell A., Betsch M., Maffulli N., Poth V., et al. Bacterial pathogens and in-hospital mortality in revision surgery for periprosthetic joint infection of the hip and knee: analysis of 346 patients. *Eur. J. Med. Res*. 2023, 28, 177, DOI: 10.1186/s40001-023-01138-y.

27. Aboltins C. A., Dowsey M. M., Buising K. L., Peel T. N., Daffy J. R., Choong P. F., et al. Gram-negative prosthetic joint infection treated with debridement, prosthesis retention and antibiotic regimens including a fluoroquinolone. *Clin. Microbiol. Infect.* 2011, 17, 862–867, DOI: 10.1111/j.1469-0691.2010.03361.x.
28. Fantoni M., Borrè S., Rostagno R., Riccio G., Carrega G., Giovannenze F., et al. Epidemiological and clinical features of prosthetic joint infections caused by gram-negative bacteria. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2019, 23, 187–194, DOI: 10.26355/eurrev_201904_17490.
29. Tai D. B.G., Patel R., Abdel M. P., Berbari E. F., Tande A. J. Microbiology of hip and knee periprosthetic joint infections: a database study. *Clin. Microbiol. Infect.* 2022, 28, 255–259, DOI: 10.1016/j.cmi.2021.06.006.
30. Fernández-Torres J., Zamudio-Cuevas Y., Martínez-Flores K., Franco-Cendejas R. Relationship between biofilm-forming microorganisms (BFM: *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*) and DEFB1 gene variants on β -defensin levels in periprosthetic joint infection (PJI). *Mol. Biol. Rep.* 2024, 51, 237, DOI: 10.1007/s11033-023-09126-5.

Об авторах

Анна Константиновна Лямцева, младший научный сотрудник Научно-исследовательской лаборатории НИИ экспериментальной и клинической медицины Белорусского государственного медицинского университета, Республика Беларусь.

ORCID: 0000-0002-1394-433X

Светлана Андреевна Костюк, профессор, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории НИИ экспериментальной и клинической медицины Белорусского государственного медицинского университета, Республика Беларусь.

ORCID: 0000-0002-3252-2626

Ольга Сергеевна Полуян, доцент, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории НИИ экспериментальной и клинической медицины Белорусского государственного медицинского университета, Республика Беларусь.

ORCID: 0000-0001-7130-2776

The authors

Anna K. Lyamtseva, junior researcher of Research Laboratory of the Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Belarusian State Medical University, Republic of Belarus.

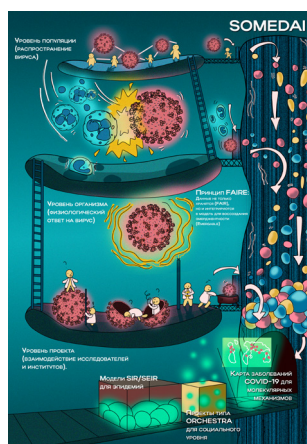
ORCID: 0000-0002-1394-433X

Svetlana A. Kostiuk, professor, Doctor of Medical Sciences, chief researcher of Research Laboratory of the Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Belarusian State Medical University, Republic of Belarus.

ORCID: 0000-0002-3252-2626

Olga S. Poluyan, Associate Professor, PhD in Biology, Leading Researcher of Research Laboratory of the Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Belarusian State Medical University, Republic of Belarus.

ORCID: 0000-0001-7130-2776

*Methodology article***MAKING DATA FINDABLE, ACCESSIBLE, INTEROPERABLE, REUSABLE, AND EMERGEABLE (FAIRE): PROPOSING A SILICON ORGANISM MODEL-ENGROSSED DATA INTEGRATION (SOMEDAI) APPROACH IN SYSTEMS BIOLOGICAL PREPARATIONS FOR THE NEXT EPIDEMICS**A. N. Kolodkin^{1, 2*}¹ Competence Center for Methodology and Statistics,
Luxembourg Institute of Health,Translational Medicine Operations Hub,
L-1445, Strassen, Luxembourg² LCSB — Luxembourg Centre for Systems Biomedicine,
University of Luxembourg,
L-4367, Belvaux, Luxembourg

* Correspondence: alexeykolodkin@gmail.com

Abstract: This manuscript is dedicated to the concept of emergence in modern systems biology and discusses the essence of this concept, its role, and its implementation using the example of epidemic modeling for COVID-19, where three dimensions of emergence should be integrated: (i) the emergence of the epidemic and the spread of the virus in a population from interactions between susceptible, infected, and recovered individuals; (ii) the emergence of health-related properties of one individual from interactions between biomolecules; (iii) the emergence of the research project from interactions between various institutions collecting different pieces of clinical data.

To cite this article:

Kolodkin A. N. Making data Findable, Accessible, Interoperable, Reusable and Emergeable (FAIRE): Proposing a Silicon Organism Model-Engrossed Data Integration (SOMEDAI) approach in Systems Biological preparations for the next epidemics. *Advanced targets in Biomedicine*. 2025;1(1):51—64.
<https://doi.org/10.5922/ATB-2025-1-1-4>

Received
17.04.2025Revised
02.06.2025Accepted
05.06.2025Published
15.07.2025

© Kolodkin A. N., 2025

Systems biological understanding of biological emergence may require changes in data management approaches. By adding the concept of Emergence, classical FAIR data management may be extended to FAIRE, where data become not only Findable, Accessible, Interoperable, and Reusable, but also Emergeable (FAIRE). To implement FAIRE data management, we propose a Silicon Organism Model-Engrossed Data Integration approach (SOMEDAI), where data are not just stored in separate databases, but are integrated into a mathematical model. The latter allows for validating data consistency and using the data to reconstruct the emergent behaviour of the whole system.

Keywords: systems biology; emergence; state dependent component properties; complex adaptive systems; FAIR data management; Silicon Organism Model-Engrossed Data Integration (SOMEDAI); SIER models; disease maps; COVID-19



Методологическая статья

КАК СДЕЛАТЬ ДАННЫЕ НАХОДИМЫМИ, ДОСТУПНЫМИ, ВЗАИМНО СОВМЕСТИМЫМИ, ПЕРЕИСПОЛЬЗУЕМЫМИ, А ТАКЖЕ ЭМЕРДЖЕНТНЫМИ (FAIRE): ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ МОДЕЛЬНО-ОРИЕНТИРОВАННОЙ ИНТЕГРАЦИИ ДАННЫХ (SOMEDAI) В СИСТЕМНО-БИОЛОГИЧЕСКОЙ ПОДГОТОВКЕ К СЛЕДУЮЩИМ ЭПИДЕМИЯМ

А. Н. Колодкин^{1, 2*}

¹ Центр Компетенций Методологии и Статистики (CCMS), Люксембургский Институт Здоровья (LIH), Операционный Хаб Трансляционной Медицины, Л-1445, Люксембург, Штрассе

² Люксембургский Центр Системной Биомедицины (LCSB), Университет Люксембурга, Л-4367, Люксембург, Бельво

* Автор-корреспондент: alexeykolodkin@gmail.com

Резюме: Настоящая работа посвящена обсуждению концепции эмерджентности в современной системной биологии и затрагивает применение этой концепции в эпидемиологическом моделировании COVID-19, где можно выделить три направления эмерджентности: (i) эмерджентность эпидемии в популяции, возникающая из взаимодействий между неинфицированными, инфицированными, и переболевшими индивидуумами; (ii) эмерджентность физиологического ответа на инфекцию на уровне инфицированного организма, возникающая из взаимодействий между биомолекулами, и (iii) эмерджентность самого научно-исследовательского проекта возникающая из взаимодействий между различными институтами и частниками проекта.

Для цитирования:

Колодкин А. Н. Как сделать данные находимыми, доступными, взаимно совместимыми, переиспользуемыми, а также эмерджентными (FAIRE): Предложения по использованию модельно-ориентированной интеграции данных (SOMEDAI) в системно-биологической подготовке к следующим эпидемиям. *Современные направления в биомедицине*. 2025;1(1):51—64. <https://doi.org/10.5922/ATB-2025-1-1-4>

Поступила
17.04.2025 г.
Прошла рецензирование
02.06.2025 г.
Принята к печати
05.06.2025 г.
Опубликована
15.07.2025 г.

© Колодкин А. Н., 2025

Системно-биологическое понимание биологической эмерджентности вызывает необходимость некоторых изменений в подходах по дата менеджменту. С добавлением концепции эмерджентности, классический подход так называемого FAIR дата менеджмента (аббревиация от Findable, Accessible, Interoperable, Reusable), трансформируется в FAIRE (Findable, Accessible, Interoperable, Reusable, Emergeable), то есть данные становятся не только легко находимыми, доступными, взаимно совместимыми, но также эмерджентными. Для реализации FAIRE дата менеджмента предлагается подход модельно-ориентированной интеграции данных (SOMEDAI), при котором данные не просто сохраняются в базах данных, но сразу же интегрируются в математическую модель, что позволяет одновременно верифицировать качество данных и реконструировать биологическую эмерджентность.

Ключевые слова: системная биология, эмерджентность, свойства компонентов, зависящие от состояния всей системы, комплексные адаптивные системы, FAIR данные, модельно-ориентированная интеграция данных, SIER модели, карты болезней, COVID-19

Introduction: Emergence, Design and State Dependency of Component Properties in Computer Models

Systems Biology aims to understand how biological function, which is absent from molecules in isolation, emerges when they become components of a system [1; 2]. The philosophical concept of “emergence” is central here. An emergent property can be defined as a property of a system that satisfies three theses about emergence: (i) the thesis of physical monism, (ii) the thesis of synchronous determinism, and (iii) the thesis or notion of being a systemic (organizational) property [3]. If all three theses are satisfied simultaneously, the property may be called an emergent property. The thesis of physical monism restricts the nature of the system’s elements, stating that the system consists only of physical entities. The thesis of synchronous determinism restricts the way systemic properties and the system’s microstructure are related, stating that there can be no difference in systemic properties without changes in the structure of the system or in the properties of the components: properties of interest (e. g., metabolite concentrations) are underpinned by changes in the system (e. g., changes in component concentrations, reaction rates). The thesis or notion of being a systemic (organizational) property means that a property is not exhibited by elements in isolation.

It has become traditional to distinguish between weak emergence and strong emergence, depending on whether the specific behaviour of the system’s components derives from, or does not derive from, the components’ behaviour in simpler configurations [3]. This distinction has a deep intuitive background. Let us consider the classic example: a piece of diamond is hard, and a piece of graphite is soft, because atoms of carbon are arranged differently in these two systems; the emergent property (hardness or softness) depends on the interactions between the system’s components. If we assume a simpler configuration of the system, e. g., a small piece of diamond, we can deduce how the atoms of carbon should be arranged to give rise to hardness. In other words, systemic properties of a large piece of diamond can be deduced from the components’ behaviour in simpler configurations. Consequently, the emergence would be classified as weak emergence. Now let us consider a living cell. Obviously, if we cut this cell into a hundred small pieces, each piece would be dead in isolation. From here, we can intuitively conclude that the property of being alive is a strongly emergent property.

However, we may also take a look at the issue from a different angle. The properties of carbon atoms in a diamond are the same in both larger and smaller pieces; component properties do not depend on the state of the system (e. g., the size and geometrical shape of the diamond). By contrast, the properties of macromolecules in the cell — e. g., how they interact with each other — do depend on the state of the cell. For instance, assume we alter the concentration of just one component in the cell, such as an enzyme. This will change the concentrations of that enzyme’s substrates and products. It is very likely that one of these substrates or products will serve as an activator, inhibitor, or substrate for another protein. This second protein may, in turn, be a transcription factor for a different enzyme or an activator of a third protein, and the effect of the initial change will propagate until, eventually, the properties (behaviour, concentrations, activity) of all components in the cell are altered [4; 5]. Components are fit to the system as a whole; their properties depend on the presence of other components, on boundary conditions, and on the initial conditions of the cell [6]. The component properties of pieces of diamond are not state-dependent. On the other hand, the component properties of parts of a cell are, to a large extent, state-dependent. If we imagine a small piece of a cell with the same composition of amino acids, lipids, ribonucleotides, and other molecules as the intact cell, some state-dependent information about molecular interactions — e. g., the purposeful ar-

reangement of these molecules as it existed in the whole cell — would be missing. The reconstruction of the emergent property of the whole cell would require information about these state-dependent properties of molecules. The emergence in the diamond differs from that occurring in the cell in the degree to which component properties in these two systems are state-dependent.

There is no emergence that is purely weak or purely strong; rather, emergence can be stronger or weaker, depending on how much we need to know about the state-dependency of the component properties — e. g., hysteresis, boundary conditions, flux of mass and energy through the system, and the number of other components affecting a given component property. The stronger the emergence, the more information about state-dependency is required. This also implies that, even if some properties might seem very strongly emergent, their emergence can still be reconstructed from the knowledge of component properties — we simply need to consider more information about their state-dependency [4; 6].

This state-dependency of system component properties can be described in terms of mathematical equations. It is, in fact, a central feature of systems biological models (Fig. 1). It makes the systems biology approach both reductionist and holistic at the same time. It is reductionist because the emergent behaviour is explained in the model in terms of system components, and it is holistic because the reconstruction of emergent behaviour requires information about the system as a whole [4; 6].

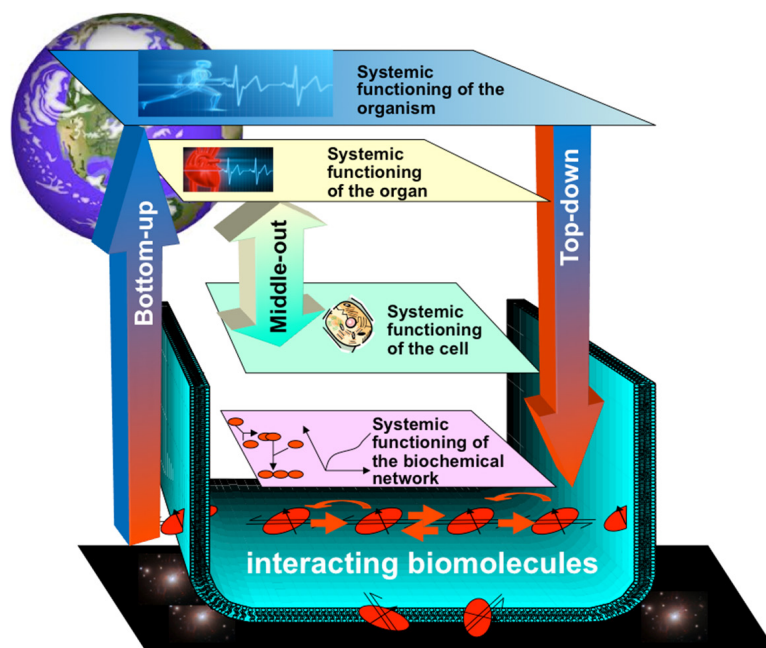


Fig. 1. Reconstruction of emergent behavior in a systems biological model.

Systemic functioning emerges from interactions between biomolecules.

There are three approaches to link the layer of interacting biomolecules to systemic functioning: the bottom-up approach begins with experimentally characterized interactions between biomolecules; the top-down approach starts with systemic functioning; and the middle-out approach begins with an entity of intermediate complexity, such as a cell, and extends both up to organismal functioning and down to interacting biomolecules

The reconstruction of emergent behaviour in a computer model from the knowledge of state-dependent component properties is closely linked to the concept of systems design. By definition, design is “the constellation of system components, their specific properties, and their pattern of interactions that together determine the inte-

grated behaviour of the system” [7]. This understanding — that the arrangement of system components is responsible for a generic set of functions — can be formalized as a more general concept of a design principle.

A design explanation builds a bridge between the underlying mechanism of interacting components and a specific emergent property associated with the design. In this respect, the design explanation resembles a causal explanation, but it also adds a new dimension by requiring the emergent property to be functional — i. e., to serve a specific role for the organism — and by addressing the question: “Why does the system consist of the parts it does, and why are those parts organized in this particular way?” [8]. Design implies a purposeful arrangement of parts [9]. In a design study, we assume that the system is structured to give rise to the emergence of a useful biological function.

Going further, according to Anokhin’s theory of functional systems (TFS), “a system can be called a complex of selectively involved components where all interactions are presented by mutual cooperation of components focused on obtaining a useful result” [10]. The idea that a goal precedes its realization by the organism was also recognized in Kant’s doctrine on the end of all things, illustrated in his example of the flute: “If Peter carves a flute, then his will (or his movement of his hands in a certain way) causes the flute (O), but his will (his movement of his hands) is determined by Peter’s idea of the flute (S)” [11]. Interestingly, this topic has also found its way into design studies of artificial systems, and is discussed by various authors — sometimes in direct analogy with the ancient “noema” concept of Plato (428/427 BC) [12]. According to this concept, a future noema (not yet realised) becomes a current noema in the process of noesis (realisation through interaction with the environment). Since the current noema will differ from the originally planned future noema, the future noema must be readjusted, and the loop continues. The theory of functional systems does not use the term noema, but it effectively implies noesis when discussing reverse afferentation.

To summarize, when building a systems biological model, we imply design of the system, and reconstruct emergent behavior *in silico* by incorporating information about the state-dependency of component properties into mathematical equations. The stronger the emergence, the more information about the state-dependency of system component properties we need to include in our model. Let us explore this in the context of COVID-19 studies, where, in order to learn from the pandemic and prepare for potential future epidemics, we must consider three dimensions of emergence.

Three Dimensions of Emergence in COVID-19 Research

First Dimension of Emergence: Dynamic Model of Virus Spread at the Population Level

With the outbreak of the COVID-19 pandemic, the initial focus of research was to build a predictive model of how SARS-CoV-2 spreads within the human population. This was modeled using the SIR (Susceptible, Infectious, and Recovered) framework, where the spread of the virus emerged from interactions between susceptible, infected, and recovered individuals. One of the earliest COVID-19 SIR models, developed by Westerhoff & Kolodkin [13], considered 14 components, with transitions between them described by a mass-action law (Fig. 2). The model, available at FAIRDOMHub (<https://fairdomhub.org/models/693>), enabled predictions of various measures’ effects on the epidemic and allowed for comparisons of different lockdown-release strategies across countries. Although the model proved useful, its predictive power was limited by the simplistic mass-action reactions used to describe transitions between system components. This limitation was partially addressed in a delay-diffe-

rential SEIR model for improved infection dynamics, developed by Kiselev, Akberdin, and Kolpakov [14]. In this model, Susceptible, Exposed, Infected, and Recovered (SEIR) individuals were treated as model components, with transitions modeled using more sophisticated mathematical equations that incorporated time delays and instantaneous transitions. Furthermore, the model accounted for different population groups, symptom progression from mild to critical, vaccination, the duration of protective immunity, and new virus strains.

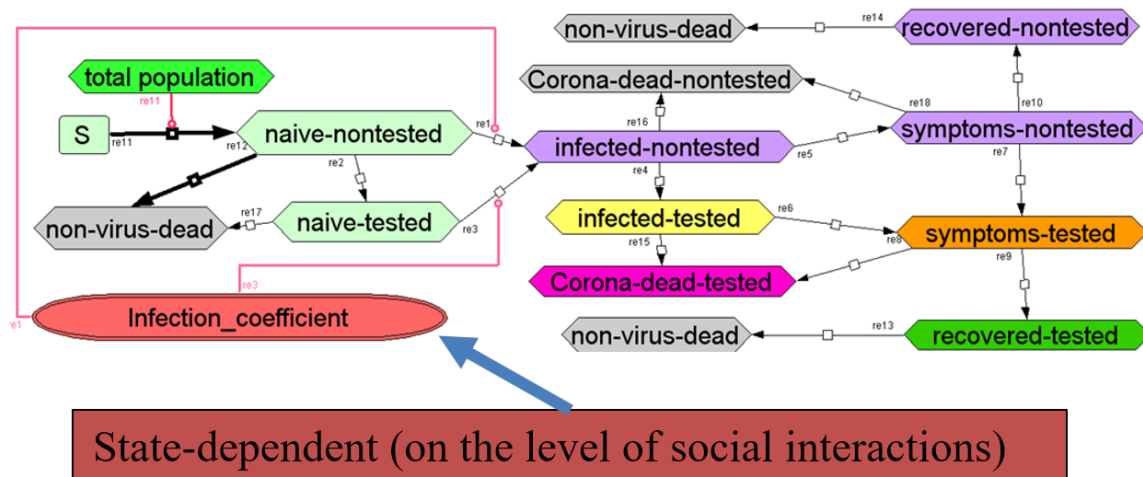


Fig. 2. Systems biology model of the COVID-19 epidemic.

Species are represented in boxes, and reactions (irreversible, mass-action) are shown as arrows.

The infection coefficient is modeled as a linear function of the numbers of infected-nontested, infected-tested, symptoms-nontested, and symptoms-tested individuals.

It is also state-dependent on the level of social interactions.

The full model, including all parameter values, is available at

<https://doi.org/10.15490/fairdomhub.1.model.693.1>

(Adapted from Westerhoff & Kolodkin [13])

Still, even more sophisticated mathematical equations describing transitions, such as between Exposed and Infected, or Infected and Recovered, remain too simplified and tend to underestimate the strength of emergence. For instance, the transition from Exposed to Infected emerges from multiple interactions between the human organism and the virus, underpinned by numerous physiological processes within the organism that are highly state-dependent on individual genetic and environmental factors. This represents another dimension of emergence.

Second Dimension of Emergence: Virus-induced Physiological Behaviour

The response of the organism to the virus and the progression of COVID-19 at the individual level emerges from interactions between the virus and a range of physiological processes. For instance, SARS-CoV-2 affects multiple molecular networks and triggers several pathophysiological mechanisms. Viral RNA and proteins have been found in tyrosine hydroxylase-immunoreactive neurons in the substantia nigra of deceased COVID-19 patients. The presence of the virus was associated with microgliosis and CNS platelet-enriched microthrombi in small parenchymal vessels [15]. There are multiple interconnected mechanisms through which the virus may induce both microgliosis and thrombosis, such as via NF- κ B signaling, which could, in

turn, be linked to oxidative stress and mitochondrial dysfunction [16]. In attempting to reconstruct, *in silico*, the influence of SARS-CoV-2 on the organism, we must account for increasingly complex molecular mechanisms. Even more intracellular networks will need to be considered when developing COVID-19 precision medicine, such as delivering specific drugs to infected cells [17]. Ultimately, we may need to extend the model to encompass a whole-body silicon cell model.

The COVID-19 Disease Map initiative, organized by the University of Luxembourg, aimed to integrate and continuously update all available information on the mechanisms by which SARS-CoV-2 interacts with the human organism. The initiative involved more than 230 scientists from diverse backgrounds, representing 120 institutions across 30 countries. As a result of the project, a knowledge repository of the molecular mechanisms underlying COVID-19 was created — approaching the complexity of the whole body (<https://covid.pages.uni.lu/>).

However, only several fragments of the knowledge integrated within the COVID-19 Disease Map were ultimately transformed into mathematical models. One successful example is the flux balance model by Renz, Widderspick, and Dräger [18]. The COVID-19 Disease Map proved useful [19] and helped, to some extent, reconstruct the emergence of diseased behaviour at the level of the human organism. Still, the emergence was represented as weaker than it actually is, and much of the state-dependency of component properties was missing. It is crucial that both the emergence of individual, patient-specific responses to the virus and the emergence at the epidemiological level (e. g. modelling how various virus strains spread through society) should be integrated into a single model.

Third Dimension of Emergence: Emergence of Research Projects

There is also a third, explicitly social, dimension of emergence, where interactions between various participants and institutions — each collecting different pieces of information — should lead to the emergence of an integrated systems biological understanding. In principle, this would involve merging the modelling of epidemics with the modelling of individual physiological responses to a virus. On this layer of emergence, the system's components are researchers, data managers, medical doctors, nurses, research groups and institutions, hospitals, and others. They interact within the framework of a project, and various project outputs — such as insights, scientific concepts, and proposed medical treatments — emerge. Once again, the concept of design is applicable: the goal serves as the system's formative factor, and the system is designed for useful emergence — e. g., new scientific understanding. However, this useful output (the project goal) evolves continuously throughout the project (a continuous adjustment of the future noema), making the project itself a Complex Adaptive System.

An example of how the goal — as the system's forming factor — may adapt during a project is found in research on the long-term consequences of SARS-CoV-2 infection. Initially, researchers would define “Long COVID”, a consequence of COVID-19, in varying ways. In some cases, it was simply defined as the presence of any symptom persisting 12 months after infection [20]. In others, more specific, model-driven definitions were proposed. For instance, in one mathematical model of the immune response to SARS-CoV-2, Long COVID corresponded to a stable stationary or periodic solution that persisted in the system after the acute infection phase [21].

Subsequently, the World Health Organization (WHO) unified the understanding of Long COVID by providing the following definition: “the continuation or develop-

ment of new symptoms 3 months after the initial SARS-CoV-2 infection, with these symptoms lasting for at least 2 months with no other explanation” (www.who.int/europe/news-room/fact-sheets/item/post-covid-19-condition).

This WHO definition came into conflict with ongoing research projects in which data collection schedules had already been established based on different timelines. For example, the Luxembourg-based CON-VINCE study (COVID-19 National survey for assessing Viral spread by Non-affected CarriErs) [22], later followed by ORCHESTRA project, an EU Horizon 2020 initiative (<https://orchestra-cohort.eu/>), which aimed to standardize and harmonize COVID-19-related data collection methodologies across multiple participating institutions to ensure consistency and interoperability in data sharing among researchers and public health authorities throughout Europe. Its scope encompassed epidemiological modeling, vaccine development, therapeutic interventions, and the evaluation of public health strategies. The project also served as a platform for rapid data analysis and dissemination of findings, supporting informed decision-making and public health responses during the COVID-19 pandemic [22].

The CON-VINCE — ORCHESTRA data collection began as early as March 2020, at the very start of the pandemic, with the observation of non-infected participants. One fraction of participants remained non-infected and formed the control group. Another fraction became infected at some point during the study, thus providing samples both before and after infection. However, the project had been launched before the WHO Long COVID definition was published. As more knowledge was becoming available (e. g., the WHO definition of Long COVID), the project settings — such as sampling intervals, test types (blood, stool, saliva, and SWAB tests), and even the questionnaires — were adjusted accordingly. Initially, when asked about their symptoms, the participants would answer questions, like: “Did you have any symptoms until today?” Later, this question was modified to: “Did you have any symptoms during the previous week?” or “Have you been having continuous symptoms since the last visit?” These changes, while small, imposed limitations on the interpretation of Long COVID data [22–24]. In addition, some symptoms — such as loss of smell — which were initially not monitored, later turned out to be central in Long COVID studies [22–24].

Many challenges in project setup were unavoidable, given that both the spread of infection in the population (the first dimension of emergence) and the exact mechanisms by which the virus affects the organism on an individual level (the second dimension of emergence) were unknown at the outset. If a whole-body computer replica of the human organism (silicon / virtual / digital) had existed, the data collection and analysis processes could have been organized differently. The COVID-19 disease map could have been projected onto this whole-body model, which could then be parameterized for each individual patient (digital twin).

Live Data: Findable, Accessible, Interoperable, and Reusable (FAIR), and also Emergeable (FAIRE) Data Management

We often think of data as something given to us. The very word ‘data’ in all Indo-European languages means ‘given,’ originating from the Sanskrit ददाति [dadAti] and दत्ते [datte], which literally translate as ‘give’ or ‘given.’ This evolved into various forms across languages: дать [dat’] (Russian), देना [dena] (Hindi), dare (Latin and Italian), dar (Spanish), donner (French), donate (English), and so on.

It can be argued, however, that data is something that we take in depending on the way our perception is set up. We might see water as a liquid with particular physical properties, as a molecular formula (H₂O), or as a system of elementary particles. With

systems biological modelling, we often treat the properties of system components as given, fixed inputs and focus on quantifying data; on making data findable, accessible, interoperable, and reusable (FAIR). However, these component properties are actually state-dependent — and in many cases, emergeable, since they *emerge* from interactions between other components in the system. Linking one component's property to others and reconstructing the system's overall emergence would, in effect, bring Emergence into the FAIR principles. In this sense, FAIR becomes FAIRE — to borrow the French verb *faire*, meaning “to do” or “to make.” FAIRE is not just about organizing data for access, but about integrating them into a model where one piece of data can be derived from others. In the words of Ernest Rutherford, who once said that “all science is either physics or stamp collecting,” we move from “stamp collecting” to “physics” in biology — computing emergent properties from known components, and linking them together in one equation. What sets biology apart, however, is that we do not rely on a handful of universal equations. Instead, we reconstruct emergence through a more complex mathematical model that accounts for higher levels of state dependency.

The next question is how to organize this emergence-oriented FAIRE data management. We propose an approach called Silicon Organism Model-Engrossed Data Integration, abbreviated as SOMEDAI (Fig. 3). We use the term “model-engrossed data integration” to emphasize that a mathematical model, rather than a traditional database, is used to store data — and not only to store it, but also to integrate different data points by linking them within the model itself. The “Silicon Organism Model” refers to a widely accepted concept of whole-body mathematical models in which emergent behaviour is reconstructed *in silico* through the interactions of system components (biomolecules).

The first step in the SOMEDAI approach is blueprint modelling of the organism. Instead of modelling individual organisms or addressing isolated research questions, we propose creating a single, generic blueprint model with various “version control” instantiations. In fact, all cells and organisms are remarkably similar: the basic building blocks (e. g., amino acids) and metabolites (ATP, glucose, pyruvate, etc.) are largely the same, and the biochemical reactions between them follow similar patterns. All living cells have very much the same processes coded by the same genes, with differences arising mainly from which genes are switched on or off during cell differentiation. Therefore, we can conceptualize a blueprint organism model as a kind of master copy that encompasses all potential instantiations. We may build such a blueprint model where small changes in gene expression bring organism-specific, or tissue-specific, or condition-specific, or disease-specific, or other specialized versions of the model.

There are two main strategies for building a blueprint model. One is a bottom-up approach: starting with knowledge-based, mechanistic interactions between components — e. g. biomolecules such as genes, RNA, proteins, and metabolites — and then generating organism-, cell-, tissue-, or other context-specific instantiations. Measured parameters are inserted into these instantiations to observe emergent behaviour, which can then be compared with experimental observations from specific cells or organisms. The other strategy is a top-down approach, where the network of interactions between components is inferred by observing the behaviour of the entire system in response to perturbations. A third option is a middle-out strategy, which integrates fragmentary knowledge to model the behaviour of a single organ or functional system. This is done by focusing on interactions between entities at lower, but not necessarily molecular, levels of organization (Fig. 1).

Promisingly, the outputs of all three approaches can be compared — with each other and with experimental observations (Fig. 3). Step by step, both top-down

and bottom-up models should converge with experimentally measured behaviour. Estimating this convergence will form a kind of controller for data integration — namely, the model itself — enabling the reconstruction of all three dimensions of emergence discussed earlier.

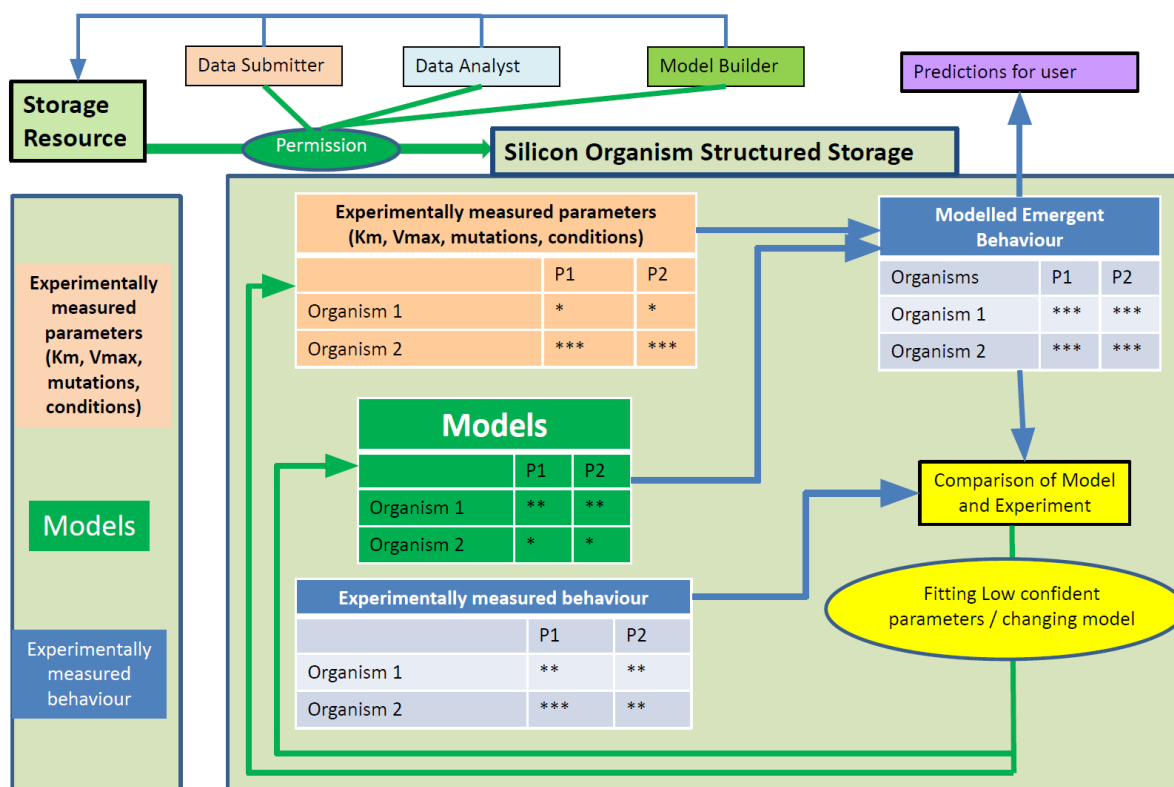


Fig. 3. Silicon Organism Model-Engrossed Data Integration (SOMEDAI). Some data consist of specific experimentally measured parameters, such as physical properties of certain enzymes (e. g., Vmax, Km). Other data capture experimentally observed emergent behaviour in response to perturbations. These parameters and emergent behaviours can be integrated into a mathematical model. The model, based on state-dependent component properties, aims to reconstruct the emergent behaviour *in silico*. The simulated behaviour can then be compared with the corresponding experimental data. Parameters that have not yet been measured, or those measured with low confidence, can be estimated (fitted). This creates a feedback loop, improving the model with each new data input

After model-driven integration of separate data pieces into the “right places,” data will become not only FAIR (Findable, Accessible, Interoperable, and Reusable), but also *emergeable* and “intelligent,” at least in some aspects of intelligence [25]. For example, the integrated system will show robust adaptation, such that all data together form a homeostatic system, and each new “small piece” of data will be adjusted or rejected based on the integrity of the larger model encompassing all datasets as a whole. Thus, the system will become capable of proposing the next set of experiments and guiding researchers — in a way that humans may eventually lose their grasp on the research process and delegate the “understanding” to more advanced integrated systems, such as a robot scientist (https://en.wikipedia.org/wiki/Robot_Scientist).

This integrated “intelligent” model will make data *live* — in the sense that the knowledge embedded in the data in the data about component properties of the sys-

tem and about the behaviour of the system will continuously adjust in response to the system's evolution. In the study of epidemics, this will enable the integration of all three dimensions of emergence: the emergence of an epidemic from interactions between individuals in a population; the emergence of individual physiological responses to the virus from intracellular mechanisms; and the emergence of the project aimed at understanding and controlling the epidemic.

Concluding Remarks

We have discussed how addressing unknown epidemics depends on successfully integrating three dimensions of emergence: emergence at the population level, emergence at the level of organism-specific response to the virus, and emergence of project organization. We have proposed the Silicon Organism Model-Engrossed Data Integration (SOMEDAI) system as a way to embrace the high state dependency of component properties and, thereby, to integrate all three dimensions of emergence — making data collection and analysis both live and intelligent.

A system like SOMEDAI cannot be implemented at the level of a single researcher, research group, or even several “self-organizing” groups. Instead, it requires a designed infrastructure that enables the consolidation of professional efforts, and the unification and standardization of various research components (e. g., modeling and data collection) for better integration into a unique system.

In reality, the first steps toward SOMEDAI data integration have already been taken at the level of research infrastructures. One example is the pioneering work of Make Me My Model (M4) by Infrastructure Systems Biology Europe [26; 27], within the EU Horizon 2020 project, Coordinated Research Infrastructures Building Enduring Life-science Services (CORBEL) (www.corbel-project.eu), which was further developed into the European Open Science Cloud for Life Sciences (EOSC-Life) (www.eosc-life.eu).

The starting point was the JWS Online model repository (<https://ijj.bio.vu.nl/>), where pre-built models — essentially small blueprint models — could be run online using either default parameters curated and approved by the JWS team or parameters chosen by the user based on their own experimental data. Users would often manually select parameters from curated databases, such as SABIO-RK (www.sabio.h-its.org), so the first step was to automate parameter selection. Now, users can access the database, choose the appropriate organism and conditions, click a button, and all selected data are automatically retrieved for simulations on JWS Online. This is just the first small building block of the SOMEDAI system. The next step would be to create a universal blueprint model linked with organism- or cell-specific instantiations. After fitting a cell-specific model to data and comparing the emergent behavior between the model and experiment, the feedback should be used to adjust the blueprint whole-body model.

At the same time, it should be acknowledged that relatively small projects like CORBEL or EOSC-Life are not equipped to fully implement the SOMEDAI approach. The strength of emergence that needs to be reconstructed in a blueprint model is substantial and requires the emergence of an infrastructure with the appropriate complexity — potentially comparable to the scale of Space programs.

Funding. This study received no external funding.

Conflict of Interest. The author declares no conflict of interest.

Финансирование. Это исследование не получало внешнего финансирования.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

References

1. Alberghina L., Westerhoff H. V. *Systems Biology: Definitions and Perspectives*. Springer: Berlin, Germany. 2005.
2. Westerhoff H. V., Kolodkin A. N., Conradie R., Wilkinson S.J., Bruggeman F. J., Krab K., et al. Systems biology towards life in silico: mathematics of the control of living cells. *J. Math. Biol.* 2009, 58(1-2), 7–34, DOI: 10.1007/s00285-008-0160-8.
3. Stephan A. The dual role of ‘emergence’ in the philosophy of mind and in cognitive science. *Synthese*. 2006, 151(3), 485–498, DOI: 10.1007/s11229-006-9019-y.
4. Kolodkin A. N., Simeonidis E., Balling R., Westerhoff H. V. Computing life: Add logos to biology and bios to physics. *Progress in Biophysics & Molecular Biology*. 2012, 111(2-3), 69–74, DOI: 10.1016/j.pbiomolbio.2012.10.003.
5. Kolodkin A. N., Bruggeman F. J., Plant N., Mone M. J., Bakker B. M., Campbell M. J., et al. Design principles of nuclear receptor signaling: how complex networking improves signal transduction. *Mol. Syst. Biol.* 2010, 6, 446, DOI: 10.1038/msb.2010.102.
6. Kolodkin A. N., Simeonidis E., Balling R., Westerhoff H. V. Understanding complexity in neurodegenerative diseases: in silico reconstruction of emergence. *Frontiers in Systems Physiology*. 2012, 3, 291, DOI: 10.3389/fphys.2012.00291.
7. Wall M. E., Hlavacek W. S., Savageau M. A. Design of gene circuits: Lessons from bacteria. *Nature Reviews Genetics*. 2004, 5(1), 34–42, DOI: 10.1038/nrg1244.
8. Wouters A. G. Design explanation: Determining the constraints on what can be alive. *Erkenntnis*. 2007, 67(1), 65–80, DOI: 10.1007/s10670-007-9045-2.
9. Behe M. J. *Darwin’s black box : the biochemical challenge to evolution*. Free Press: New York. 2006, ISBN 0684834936.
10. Анохин П. К. *Очерки по физиологии функциональных систем*. Медицина: Москва. 1975, ISBN 978-5-458-38439-11975.
11. Heidemann D. (Ed.). *Teleology*. Kant Yearbook. 2009.
12. Лосев А. Ф. *Собрание сочинений. Том 1. Бытие. Имя. Космос*. Издательство «Мысль», Российский открытый университет: Москва. 1993, ISBN 5-244-00717-3.
13. Westerhoff, H.V., Kolodkin, A. N. Advice from a systems-biology model of the corona epidemics. *NPJ Syst. Biol. Appl.* 2020, 6, 18, DOI: 10.1038/s41540-020-0138-8.
14. Kiselev I. N., Akberdin I. R., Kolpakov F. A. Delay-differential SEIR modeling for improved modelling of infection dynamics. *Sci. Rep.* 2023, 13(1), 13439, DOI: 10.1038/s41598-023-40008-9.
15. Emmi A., Rizzo S., Barzon L., Sandre M., Carturan E., Sinigaglia A., et al. Detection of SARS-CoV-2 viral proteins and genomic sequences in human brainstem nuclei. *NPJ Parkinsons Dis.* 2023, 9(1), 25, DOI: 10.1038/s41531-023-00467-3
16. Kolodkin A. N., Sharma P. R., Colangelo A. M., Ignatenko A., Martorana F., Jennen D., et al. ROS networks: designs, aging, Parkinson’s disease and precision therapies. *NPJ Syst. Biol. Appl.* 2020, 6(1), 34, DOI: 10.1038/s41540-020-00150-w.
17. Zubarev I., Vladimirtsev D., Vorontsova M., Blatov I., Shevchenko K., Zvereva S., et al. Viral Membrane Fusion Proteins and RNA Sorting Mechanisms for the Molecular Delivery by Exosomes. *Cells*. 2021, 10(11), 3043, DOI: 10.3390/cells10113043.

18. Renz A., Widerspick L., Dräger A. FBA reveals guanylate kinase as a potential target for antiviral therapies against SARS-CoV-2 Click here to expand. *Bioinformatics*. 2020, 36(2), i813–i821, DOI: 10.1093/bioinformatics/btaa813.
19. Ostaszewski M., Niarakis A., Mazein A., Kuperstein I., Phair R., Orta-Resendiz A., et al. COVID-19 Disease Map community. COVID-19 Disease Map a computational repository of SARS-CoV-2 virus-host interaction mechanisms. *Mol. Syst. Biol.* 2021, 17(10), e10387, DOI: 10.15252/msb.202110387.
20. Fischer A., Zhang L., Elbéji A., Wilmes P., Oustric P., Staub T., et al. Long COVID Symptomatology After 12 Months and Its Impact on Quality of Life According to Initial Coronavirus Disease 2019 Disease Severity. *Open Forum Infect. Dis.* 2022, 9(8), ofac397, DOI: 10.1093/ofid/ofac397.
21. Khristichenko M., Nechepurenko Y., Grebennikov D., Bocharov G., Computation and analysis of stationary and periodic solutions of the COVID-19 infection dynamics model. *Journal of Bioinformatics and Computational Biology*. 2025, 23(1), 2540001, DOI: 10.1142/S0219720025400013.
22. Tsurkalenko O., Bulaev D., O'Sullivan M.P., Snoeck C., Ghosh S., Kolodkin A., et al. CON-VINCE consortium and the ORCHESTRA working group. Creation of a pandemic memory by tracing COVID-19 infections and immunity in Luxembourg (CON-VINCE). *BMC Infect. Dis.* 2024, 24(1), 179, DOI: 10.1186/s12879-024-09055-z.
23. Conde P. M., Bulaev D., Rauschenberger A., Ohnmacht J., Fritz J. V., O'Sullivan M. P., et al. Distinguishing Post COVID from Pandemic-Related Health Effects: Insights from a 4-Year Prospective Cohort Study. *Journal of Infection*, 2025, in press.
24. Novelli S., Reinkemeyer C., Bulaev D., O'Sullivan M.P., Snoeck C., Rauschenberger A., et al. Waning of anti-SARS-CoV-2 antibodies after the first wave of the COVID-19 pandemic in 2020: a 12-month-evaluation in three population-based. *PloS One*. 2025, 20(5), e0320196, DOI: 10.1371/journal.pone.0320196.
25. Westerhoff H. V., Brooks A. N., Simeonidis E., Garcia-Contreras R., He F., Boogerd F. C., et al. Macromolecular networks and intelligence in microorganisms. *Frontiers in microbiology*. 2014, 5, 379, DOI: 10.3389/fmicb.2014.00379.
26. Kolodkin A., Alberghina L., Snoep J. L., Piccialli G., Borsani M., Westerhoff H. V. Infrastructure Systems Biology Europe (ISBE): Emergence of Innovative Systems Biology Servicing Abstract book of 4th Dutch Bioinformatics & Systems Biology Conference Congressentrum De Werelt, Lunteren. 71, DOI: 10.18699/BGRSSB-2018-108.
27. Dos Santos M. V., Anton M., Szomolay B., Ostaszewski M., Arts I., Benfeitas R., et al. Systems Biology in ELIXIR: modelling in the spotlight. *F1000Research*. 2022, 11(ELIXIR), 1265, DOI: 10.12688/f1000research.126734.1.

The authors

Alexey N. Kolodkin, PhD, clinical data manager, Competence Center for Methodology and Statistics (CCMS), Luxembourg Institute of Health (LIH), Translational Medicine Operations Hub; visiting researcher, Luxembourg Centre for Systems Biomedicine (LCSB), University of Luxembourg, Luxembourg.

ORCID: 0000-0002-7466-5027

Об авторах

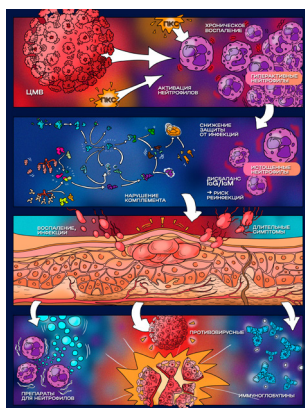
Алексей Николаевич Колодкин, PhD, менеджер клинических данных, Центр компетенций методологии и статистики (CCMS), Люксембургский институт здоровья (LIH), Операционный хаб трансляционной медицины; приглашенный исследователь, Люксембургский центр системной биомедицины (LCSB), Университет Люксембурга, Люксембург.

ORCID: 0000-0002-7466-5027

Краткие сообщения

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОСТКОВИДНОГО СИНДРОМА, АССОЦИИРОВАННОГО С ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ: РОЛЬ НЕЙТРОФИЛОВ И СИСТЕМЫ КОМПЛЕМЕНТА

А. А. Мосунов*



Институт иммунологии и физиологии
Уральского отделения Российской академии наук,
620078, Россия, Екатеринбург

* Автор-корреспондент: andrey.mosunov@list.ru

Аннотация. Постковидный синдром, затрагивающий до 48 % пациентов после COVID-19, характеризуется стойкими иммунными нарушениями, включая дисфункцию врожденного иммунитета и повышенную уязвимость к реактивации хронических инфекций. Цитомегаловирус (ЦМВ), персистирующий у 60–90 % населения, при иммуносупрессии вызывает тяжелые осложнения, такие как гепатит, энцефалит и полиорганная недостаточность. Актуальность исследования обусловлена необходимостью изучения взаимосвязи между ЦМВ-реактивацией и иммунопатогенезом постковидного синдрома, особенно в контексте дисфункции нейтрофилов и системы комплемента. Цель работы — оценить особенности фагоцитарной активности нейтрофилов и активности комплемента у пациентов с постковидным синдромом на фоне ЦМВ-инфекции.

Методы включали оценку фагоцитарной функции нейтрофилов с использованием латексных частиц диаметром 1,7 мкм: подсчет фагоцитирующих клеток на 100 нейтрофилов, расчет индекса фагоцитоза, фагоцитарного числа и интенсивности фагоцитарной активности методом световой микроскопии. Бактерицидная активность нейтрофилов анализировалась с помощью стандартного НСТ-теста. Уровень фрагментов системы комплемента определялся методом иммуноферментного анализа (ИФА).

Полученные данные позволяют выявить специфические нарушения фагоцитарного звена и комплемент-опосредованного иммунитета, ассоциированные с ЦМВ-реактивацией при постковидном синдроме. Результаты исследования могут стать основой для разработки персонализированных подходов к иммунокоррекции у данной категории пациентов.

Ключевые слова: постковидный синдром, цитомегаловирусная инфекция, иммунный статус, фагоцитоз нейтрофилов

Для цитирования:

Мосунов А. А. Иммунологические особенности постковидного синдрома, ассоциированного с цитомегаловирусной инфекцией: роль нейтрофилов и системы комплемента. *Современная биомедицина*. 2025;1(1):65–73.
<https://doi.org/10.5922/ATB-2025-1-1-5>

Поступила
21.04.2025 г.
Прошла рецензирование
04.06.2025 г.
Принята к печати
05.06.2025 г.
Опубликована
15.07.2025 г.

© Мосунов А. А., 2025



Short messages

IMMUNOLOGICAL FEATURES OF POST-COVID SYNDROME ASSOCIATED WITH CYTOMEGALOVIRUS INFECTION: THE ROLE OF NEUTROPHILS AND THE COMPLEMENT SYSTEM

A. A. Mosunov*

Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the
Russian Academy of Sciences,
620078, Yekaterinburg, Russia

* Correspondence: andrey.mosunov@list.ru

Abstract: Post-COVID syndrome, affecting up to 48 % of patients after COVID-19, is characterized by persistent immune dysregulation, including innate immunity dysfunction and increased susceptibility to reactivation of chronic infections. Cytomegalovirus (CMV), which persists in 60–90 % of the population, can cause severe complications under immunosuppressive conditions, such as hepatitis, encephalitis, and multi-organ failure. The relevance of this study lies in investigating the relationship between CMV reactivation and the immunopathogenesis of post-COVID syndrome, particularly in the context of neutrophil dysfunction and complement system impairment. The aim of this study was to evaluate the features of neutrophil phagocytic activity and complement system activity in patients with post-COVID syndrome and concurrent CMV infection.

Methods included assessment of neutrophil phagocytic function using 1.7 μm latex particles: counting phagocytic cells per 100 neutrophils, calculating the phagocytic index, phagocytic number, and phagocytic intensity via light microscopy. Neutrophil bactericidal activity was analyzed using the standard nitroblue tetrazolium (NBT) test. Complement system component levels were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

The findings will help identify specific impairments in phagocytic function and complement-mediated immunity associated with CMV reactivation in post-COVID syndrome. The results of this study may provide a basis for developing personalized immunomodulatory approaches for this patient population.

Keywords: post-COVID syndrome, cytomegalovirus infection, immune status, neutrophil phagocytosis.

To cite this article:

Mosunov A. A. Immunological Features of Post-COVID Syndrome Associated with Cytomegalovirus Infection: The Role of Neutrophils and the Complement System. *Advanced targets in Biomedicine*. 2025;1(1):65–73. <https://doi.org/10.5922/ATB-2025-1-1-5>

Received
21.04.2025
Revised
04.06.2025
Accepted
05.06.2025
Published
15.07.2025

© Mosunov A. A., 2025

Введение

Постковидный синдром (ПКС), регистрируемый у 30—48 % пациентов после перенесенного COVID-19, характеризуется длительным иммунным дисбалансом, сохраняющимся более 6—12 месяцев после острой фазы инфекции [1]. Одним из ключевых проявлений ПКС является нарушение функций врожденного иммунитета, что создает предпосылки для реактивации латентных вирусных инфекций, включая цитомегаловирус (ЦМВ) [2]. ЦМВ, персистирующий у 60—90 % взрослого населения, при иммуносупрессии способен индуцировать тяжелые органые поражения, такие как гепатит, энцефалит и полиорганная недостаточность [3]. Однако механизмы, связывающие персистенцию ЦМВ с дисфункцией нейтрофилов и системы комплемента у пациентов с ПКС, остаются недостаточно изученными, что определяет актуальность настоящего исследования.

Современные данные указывают на стойкие изменения фагоцитарной активности нейтрофилов у пациентов с ПКС, включая снижение бактерицидного потенциала и нарушение процессов хемотаксиса [4]. Нейтрофилы как ключевые эффекторы врожденного иммунитета не только участвуют в элиминации патогенов, но и модулируют адаптивный иммунный ответ через взаимодействие с системой комплемента [5]. При этом длительная циркуляция SARS-CoV-2-ассоциированных иммунных комплексов может нарушать регуляцию комплемента, усиливая провоспалительный каскад и способствуя повреждению тканей [6]. На этом фоне реактивация ЦМВ, обладающего тропностью к миелоидным клеткам, может усугублять дисфункцию нейтрофилов, формируя порочный круг иммунопатологических реакций [7].

Цель исследования — изучить особенности фагоцитарной активности нейтрофилов и активности системы комплемента у пациентов с ПКС на фоне реактивации ЦМВ-инфекции. Задачи:

1. Оценить показатели фагоцитоза (индекс фагоцитоза, фагоцитарное число, интенсивность фагоцитоза) и бактерицидную активность нейтрофилов (НСТ-тест) у пациентов с ПКС при наличии и отсутствии активной ЦМВ-инфекции.
2. Проанализировать уровни ключевых компонентов системы комплемента (C1 фрагмент ингибитора, C3, C4) в исследуемых группах.

Настоящая работа фокусируется на фундаментальных аспектах дисрегуляции врожденного иммунитета при ПКС, впервые рассматривая ЦМВ-реактивацию как потенциальный триггер нарушения антимикробной защиты. Полученные результаты могут расширить представления о молекулярных механизмах длительной иммуносупрессии после COVID-19 и обосновать необходимость таргетной коррекции фагоцитарной функции у пациентов с герпесвирусными коинфекциями.

Материалы и методы

Дизайн исследования.

В исследование включены 45 пациентов, перенесших лабораторно подтвержденную SARS-CoV-2-инфекцию (методом ПЦР), с развитием постковидного синдрома (ПКС), соответствующим критериям ВОЗ (код U09.9).

Критерии включения:

1. Наличие клинических проявлений ПКС (усталость, рецидивирующие инфекции кожи, дыхательных путей и почек), сохраняющихся в течение 6—12 месяцев после острой фазы COVID-19.

2. Положительный результат ПЦР-исследования слюны на ДНК ЦМВ с использованием амплификатора DTprime (система DNA-technology).

3. Выявление серологических маркеров активной ЦМВ-инфекции (IgM/IgG к антигенам ЦМВ) при анализе тест-системами «Вектор-Бест».

Критерии исключения:

1. Острые воспалительные процессы на момент исследования.

2. Наличие хронических вирусных инфекций (ВИЧ, гепатиты В/С, другие герпесвирусы).

Группы исследования:

1. Группа 1 (n = 19): пациенты с ПКС без лабораторных признаков активной ЦМВ-инфекции (отрицательные результаты ПЦР в слюне и серологических тестов на IgM/IgG).

2. Группа 2 (n = 19): пациенты с ПКС и активной ЦМВ-инфекцией (положительные результаты ПЦР в слюне и серологических тестов на IgM/IgG).

3. Группа 3 (n = 7): условно здоровые лица без ПКС и ЦМВ-инфекции (отрицательные результаты ПЦР и серологических тестов).

Этическое одобрение.

Исследование одобрено Независимым локальным этическим комитетом при ФНИИВИ «Виром» Роспотребнадзора г. Екатеринбурга (протокол № 1 от 22.03.2024). Все участники предоставили письменное информированное согласие.

Иммунологические методы исследования.

1. Фагоцитарная активность нейтрофилов:

- Инкубацию нейтрофилов с латексными частицами (1,7 мкм, Sigma-Aldrich) проводили при 37°C в течение 30 мин.

- Количество фагоцитирующих клеток оценивали методом световой микроскопии (Olympus CX43, $\times 1000$) с подсчетом на 100 нейтрофилов.

- Анализировали следующие параметры:

- Индекс фагоцитоза (%) — доля клеток с поглощенными частицами;

- Фагоцитарное число — среднее количество частиц на клетку;

- Интенсивность фагоцитоза — общее число поглощенных частиц на 100 клеток.

2. НСТ-тест:

- Определяли спонтанную и индуцированную редукцию нитросинего тетразолия в нейтрофилах.

- Результаты выражены в процентах клеток с восстановлением формазана.

3. Система комплемента:

- Уровни компонентов С3 и С4 в сыворотке крови измеряли методом ИФА с использованием тест-систем «Вектор-Бест» (РФ) на анализаторе StatFax 4700.

Статистический анализ.

Для обработки данных применяли непараметрические методы (ввиду малого размера выборок). Результаты представлены как $M \pm m$, где M — среднее арифметическое, m — стандартная ошибка среднего. Различия между группами оценивали с помощью критерия Манна — Уитни (U), статистическую значимость устанавливали при $p < 0,05$ [8].

Результаты

Проведенный анализ иммунологических показателей нейтрофильного звена у пациентов с ПКС и персистирующей цитомегаловирусной инфекцией (ЦМВ+) выявил ряд значимых различий и тенденций (табл. 1).

Таблица 1

**Иммунологические показатели
нейтрофильного звена иммунитета постковидных пациентов
с персистирующей цитомегаловирусной инфекцией**

Table 1

**Immunological parameters of the neutrophilic arm of immunity
in post-COVID patients with persistent cytomegalovirus infection**

Показатель	Группа 1 Постковид+ ЦМВ+ n = 19	Группа 2 Постковид+ ЦМВ – n = 19	Группа 3 Постковид – ЦМВ – n = 7	p < 0,05
Активность фагоцитоза нейтрофилов	36,94 ± 2,95	33,19 ± 2,81	36,17 ± 3,55	—
Индекс фагоцитоза нейтрофилов	0,96 ± 0,62	0,94 ± 0,16	0,87 ± 0,11	—
Фагоцитарное число нейтрофилов	2,65 ± 0,94	2,84 ± 0,40	2,27 ± 0,13	—
НСТ-спонтанная активность	20,81 ± 5,47	15,65 ± 3,01	9,17 ± 1,30	p < 0,05 ₁₋₃ p < 0,05 ₂₋₃
НСТ-спонтанный индекс	0,26 ± 0,07	0,20 ± 0,04	0,11 ± 0,07	p < 0,05 ₁₋₃ p < 0,05 ₂₋₃
НСТ-индуцированная активность	56,25 ± 2,63	54,63 ± 6,39	65,33 ± 2,70	p < 0,05 ₁₋₃ p < 0,05 ₂₋₃
НСТ-индуцированный индекс	0,64 ± 0,03	0,61 ± 0,07	0,87 ± 0,02	p < 0,05 ₁₋₃ p < 0,05 ₂₋₃

Примечание: для оценки достоверности различий использовался критерий Манна – Уитни (U), изменения считались статистически значимыми при p < 0,05.

НСТ-спонтанная активность и НСТ-спонтанный индекс были достоверно выше в группе ПКС+ЦМВ+ по сравнению с группой ПКС+ЦМВ – и контрольной группой (ПКС – ЦМВ –), что свидетельствует о повышенной спонтанной активности нейтрофилов у пациентов с персистенцией ЦМВ.

НСТ-индуцированная активность и НСТ-индуцированный индекс оказались значимо ниже в группах ПКС (как с ЦМВ+, так и с ЦМВ –) по сравнению с контрольной группой, что указывает на сниженную функциональную резервную способность нейтрофилов у постковидных пациентов.

Активность фагоцитоза нейтрофилов была несколько выше в группах ПКС+ЦМВ+ и контрольной группе по сравнению с ПКС+ЦМВ –, что может отражать компенсаторные механизмы при ЦМВ-персистенции.

Фагоцитарное число нейтрофилов демонстрировало тенденцию к увеличению в группе ПКС+ЦМВ – по сравнению с контрольной группой, что, однако, не достигло статистической значимости.

Снижение индуцированной НСТ-активности у постковидных пациентов, особенно в сочетании с персистенцией ЦМВ, может указывать на истощение функционального резерва нейтрофилов, что повышает риск вторичных инфекций и затяжного течения воспалительных процессов. Повышенная спонтанная НСТ-активность у пациентов с ЦМВ+ может отражать хроническую активацию иммунной системы, что способствует персистенции воспаления и потенциально усугубляет постковидные осложнения.

Анализ гуморальных показателей иммунитета у пациентов с постковидным синдромом (ПКС) и персистирующей цитомегаловирусной инфекцией (ЦМВ+) выявил следующие ключевые закономерности (табл. 2).

Таблица 2

**Иммунологические показатели гуморального звена
иммунитета постковидных пациентов
с персистирующей цитомегаловирусной инфекцией**

Table 2

**Immunological parameters of the humoral immunity
in post-COVID patients with persistent cytomegalovirus infection**

Показатель	Группа 1 Постковид + ЦМВ+ n = 19	Группа 2 Постковид + ЦМВ – n = 19	Группа 3 Постковид – ЦМВ – n = 7	p < 0,05
IgA	2,17 ± 1,74	2,82 ± 2,24	1,90 ± 0,41	—
IgM	3,12 ± 0,45	3,14 ± 0,41	1,06 ± 0,18	p < 0,05 ₁₋₃ p < 0,05 ₂₋₃
IgG	13,26 ± 2,32	24,49 ± 2,12	24,01 ± 1,55	p < 0,05 ₁₋₂ p < 0,05 ₁₋₃
C1	271,71 ± 27,28	239,12 ± 20,72	336,05 ± 36,66	p < 0,05 ₁₋₃ p < 0,05 ₂₋₃
C3a	111,81 ± 5,31	105,57 ± 3,37	114,92 ± 4,62	—
C5a	33,36 ± 9,06	28,16 ± 6,53	30,15 ± 8,82	—

Примечание: для оценки достоверности различий использовался критерий Манна – Уитни (U), изменения считались статистически значимыми при значении p < 0,05.

Уровень IgM был достоверно выше в обеих группах постковидных пациентов (ПКС+ЦМВ+ и ПКС+ЦМВ–) по сравнению с контрольной группой (ПКС–ЦМВ–), что может отражать активный гуморальный иммунный ответ, характерный для постковидного состояния.

Концентрация IgG оказалась значимо ниже в группе ПКС+ЦМВ+ по сравнению с группой ПКС+ЦМВ– и контрольной группой, что свидетельствует о возможном нарушении долговременного гуморального иммунитета у пациентов с персистенцией ЦМВ.

Уровень компонента комплемента C1 был достоверно снижен в группах ПКС (особенно в ПКС+ЦМВ–) по сравнению с контрольной группой, что указывает на возможную дисрегуляцию системы комплемента при постковидном синдроме.

Показатель IgA демонстрировал тенденцию к повышению в группе ПКС+ЦМВ– по сравнению с другими группами, что может говорить об усилении местного иммунного ответа у данной категории пациентов.

Уровни С3а и С5а были несколько снижены в группе ПКС+ЦМВ – по сравнению с контрольной группой, что, однако, не достигло статистической значимости.

Снижение уровня IgG у пациентов с ПКС+ЦМВ+ может указывать на нарушение формирования долговременного иммунитета, что повышает риск реинфекций и хронизации воспалительных процессов. Повышенный уровень IgM у постковидных пациентов отражает активную фазу иммунного ответа, однако его сохранение может свидетельствовать о персистенции антигенной стимуляции. Снижение С1 в группах ПКС предполагает возможную дисфункцию системы комплемента, что может способствовать нарушению элиминации патогенов и поддержанию хронического воспаления.

Обсуждение

Проведенный анализ иммунологических показателей у пациентов с постковидным синдромом, осложненным персистирующей цитомегаловирусной инфекцией, выявил комплексные нарушения как в клеточном (нейтрофильном), так и в гуморальном звеньях иммунитета. Эти изменения формируют характерную иммунологическую картину, которая может объяснять многие клинические проявления постковидного синдрома и служить основой для разработки персонализированных подходов к терапии.

Нарушения нейтрофильного звена иммунитета демонстрируют два ключевых паттерна. С одной стороны, отмечается повышение спонтанной активности нейтрофилов (НСТ-спонтанная активность и индекс), особенно выраженное у пациентов с ЦМВ-персистенцией. Этот феномен может отражать хроническую активацию врожденного иммунитета в ответ на персистенцию вирусных антигенов. С другой стороны, наблюдается значительное снижение индуцированной НСТ-активности во всех группах постковидных пациентов, что свидетельствует о функциональном истощении нейтрофилов. Такая двойственность — сочетание гиперреактивности в покое со сниженным резервным потенциалом — создает предпосылки для развития как хронического воспаления, так и повышенной восприимчивости ко вторичным инфекциям.

Изменения гуморального иммунитета носят не менее значимый характер. Особого внимания заслуживает диссоциация в уровнях иммуноглобулинов: при повышенных показателях IgM (маркера острой фазы иммунного ответа) у всех постковидных пациентов группа с ЦМВ-персистенцией демонстрирует значимо более низкие уровни IgG по сравнению с другими группами. Это может указывать на нарушение переключения изотипов иммуноглобулинов и формирование долговременной иммунной памяти, что объясняет частые случаи реинфекций у таких больных. Одновременное снижение компонента комплемента С1 создает дополнительные предпосылки для нарушения элиминации патогенов.

Клинические корреляции этих иммунологических нарушений проявляются в нескольких аспектах:

1. Склонность к хронизации воспалительных процессов объясняется сочетанием хронической активации нейтрофилов (повышенная спонтанная НСТ-активность) и нарушением регуляции системы комплемента. Это создает условия для поддержания субклинического воспаления даже после элиминации вируса.

2. Повышенная частота вторичных инфекций связана с функциональным истощением нейтрофилов (снижение индуцированной НСТ-активности) и дефектами гуморального иммунитета (низкий IgG, нарушения комплемента).

3. Длительное персистирование симптомов может быть следствием постоянной антигенной стимуляции (о чем свидетельствует повышенный IgM) на фоне неполноценного иммунного ответа.

Особую клиническую значимость приобретает влияние ЦМВ-персистенции на иммунный статус. У таких пациентов отмечается более выраженная активация нейтрофилов при одновременном более значительном снижении IgG, что создает уникальный иммунологический профиль, требующий особых терапевтических подходов. Вероятно, ЦМВ-инфекция не просто сопутствует ПКС, но и модифицирует его течение, усугубляя иммунные нарушения.

Перспективы терапевтического вмешательства, вытекающие из этих данных, могут включать:

1) для коррекции нейтрофильных нарушений — препараты, модулирующие функциональную активность фагоцитов;

2) при выявлении ЦМВ-персистенции — опциональную противовирусную терапию;

3) для коррекции гуморальных нарушений — иммуноглобулинотерапию в отдельных случаях;

4) обязательный мониторинг и профилактику вторичных инфекций.

Представленные данные создают сложную картину иммунной дисфункции при ПКС, которая усугубляется при сопутствующей ЦМВ-персистенции. Выявленные изменения носят системный характер, затрагивая как врожденный, так и адаптивный иммунитет, и требуют комплексного подхода к диагностике и лечению. Дальнейшие исследования должны быть направлены на уточнение причинно-следственных связей между этими нарушениями и разработку дифференцированных алгоритмов иммунокоррекции с учетом наличия или отсутствия герпесвирусных коинфекций.

Финансирование. Работа выполнена по теме госзаданий ФНИИВИ «ВИРОМ» «Изучение механизмов формирования хронической вирусной инфекции у пациентов с постковидным синдромом и нарушением функций иммунной системы. Разработка патогенетических подходов к эффективной профилактике и иммунокоррекции выявленных нарушений у пациентов с постковидным синдромом». № госрегистрации 124031800093-5.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Funding. The work was carried out under the state research assignment of FSRIV “VIROM” on the topic: “Study of the mechanisms underlying chronic viral infection in patients with post-COVID syndrome and immune system dysfunction. Development of pathogenetic approaches for effective prevention and immune correction of identified disorders in patients with post-COVID syndrome.” State registration number: 124031800093-5.

Conflict of Interest. The author declares no conflict of interest.

Список литературы

1. Davis H. E., Assaf G. S., McCorkell L., Wei H., Low R. J., Re'em Y. et al. Characterizing long COVID in an international cohort: 7 months of symptoms and their impact. *EClinicalMedicine* 2021, 38, 101019, DOI: 10.1016/j.eclinm.2021.101019.

2. Gold J. E., Okyay R. A., Licht W. E., Hurley D. J. Investigation of Long COVID Prevalence and Its Relationship to Epstein-Barr Virus Reactivation. *Pathogens*. 2021, 10(6), 763, DOI: 10.3390/pathogens10060763.

3. Griffiths P., Baraniak I., Reeves M. The pathogenesis of human cytomegalovirus. *Journal of Pathology*. 2015, 235(2), 288–297, DOI: 10.1002/path.4437.
4. Schulte-Schrepping J., Reusch N., Paclik D., Baßler K., Schlickeiser S., Zhang B. et al. Severe COVID-19 Is Marked by a Dysregulated Myeloid Cell Compartment. *Cell*. 2020, 182(6), 1419–1440, DOI: 10.1016/j.cell.2020.08.001.
5. Mantovani A., Cassatella M. A., Costantini C., Jaillon S. Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity. *Nature Reviews Immunology*. 2011, 11(8), 519–531, DOI: 10.1038/nri3024.
6. Java A., Apicelli A. J., Liszewski M. K., Coler-Reilly A., Atkinson J. P., Kim A. H. et al. The complement system in COVID-19: friend and foe? *JCI Insight*. 2020, 5(15), e140711, DOI: 10.1172/jci.insight.140711.
7. Smith C. J., Caldeira-Dantas S., Turula H., Snyder C. M. Cytomegalovirus immune evasion sets the functional state of neutrophils. *Nature Communications*. 2023, 14(1), 1234, DOI: 10.1038/s41467-023-36872-8.
8. Лакин Г. Ф., Медик В. А. Статистика в медицине и биологии. Теоретическая статистика. Медицина: Москва, 2000, 1. 454, ISBN 5-225-02610-4.

Об авторах

Андрей Алексеевич Мосунов, аспирант, Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук, младший научный сотрудник лаборатории трансмиссионных вирусных инфекций и клещевого энцефалита Федерального научно-исследовательского института вирусных инфекций «Виром» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Россия.

ORCID: 0009-0001-4866-600X

The authors

Andrey A. Mosunov, PhD Student, Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (IIP UB RAS), Junior researcher, Laboratory of Transmissible Viral Infections and Tick-Borne Encephalitis, Federal Scientific Research Institute of Viral Infections “Virome” of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Russia.

ORCID: 0009-0001-4866-600X

Оригинальная исследовательская статья

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ИШЕМИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИИ: РЕЗУЛЬТАТЫ МНОГОМЕРНОГО ФАКТОРНОГО АНАЛИЗА

С. П. Чумакова^{1, 3*}, О. А. Денисенко¹, О. И. Уразова^{1, 4},
В. М. Шипулин², С. Л. Андреев²,
А. К. Топоркова³, Л. С. Литвинова³



¹ Сибирский государственный медицинский университет,
634050, Россия, Томск

² Томский национальный исследовательский медицинский центр
Российской академии наук,
Научно-исследовательский институт кардиологии,
634012, Россия, Томск

³ Балтийский федеральный университет им. И. Канта,
236041, Россия, Калининград

⁴ Томский государственный университет систем
управления и радиоэлектроники,
634050, Россия, Томск

* Автор-корреспондент: chumakova_s@mail.ru

Актуальность. Патогенез ишемической кардиомиопатии (ИКМП) до конца не изучен.

Цель. Выявление ключевых патогенетических факторов развития ИКМП с помощью многофакторного анализа и определение степени их влияния на заболевание.

Материал и методы. В исследование включено 60 больных ишемической болезнью сердца (ИБС) с ИКМП, 44 больных ИБС без кардиомиопатии. Материалом служили кровь и костный мозг, в которых определяли содержание десквамированных эндотелиальных клеток (ДЭК), классических, промежуточных, неклассических, переходных моноцитов, ранних и поздних эндотелиальных прогениторных клеток (ЭПК) методом проточной цитофлуориметрии. В плазме крови и надосадке костного мозга оценивали концентрацию VEGF-A, SDF-1, MCP-1, M-CSF, GM-CSF, TNF- α , HIF-1 α , IL-6, IL-10, IL-13, IFN- γ методом иммунофлуоресцентного и иммуноферментного анализа. Выполнен корреляционный и многомерный факторный анализ при $p < 0,05$.

Результаты. На уровне крови первый по степени влияния на ИКМП фактор сочетал в себе содержание SDF-1, HIF-1 α , M-CSF, ДЭК (обуславливал 41,8 % дисперсии), второй — IL-10 и MCP-1 (31,1 %), третий — поздних ЭПК (26,3 %), четвертый — IL-6 и IL-13 (21,6 %). В костном мозге первый по значимости фактор объединял содержание IL-10, IFN- γ , IL-13, M-CSF/IL-13 и классических моноцитов (47,1 %), второй — неклассических моноцитов и TNF- α (35,2 %), третий — VEGF-A, MCP-1, GM-CSF, HIF-1 α (32,7 %), четвертый — ранних ЭПК и IL-6 (25,5 %). В костном мозге у больных ИБС без кардиомиопатии установлена связь между концентрацией IL-6 и SDF-1 ($r = -0,781$, $p = 0,013$); у пациентов с ИКМП — IL-6 и MCP-1 ($r = 0,899$, $p = 0,014$).

Заключение. Ведущими патогенетическими факторами ИКМП являются: в крови — анергия медиаторного ответа HIF-1 α , SDF-1 на гипоксию с гиперпродукцией IL-10; в костном мозге — недостаточность классических моноцитов и соотношения M-CSF/IL-13 в условиях избытка IFN- γ .

Ключевые слова: цитокины, субпопуляции моноцитов, эндотелиальные прогениторные клетки, ангиогенез, моноцитопоз, ишемическая болезнь сердца

Для цитирования:

Чумакова С. П., Денисенко О. А.,
Уразова О. И., Шипулин В. М.,
Андреев С. Л., Топоркова А. К.,
Литвинова Л. С. Патогенетические
факторы ишемической
кардиомиопатии: результаты
многомерного факторного ана-
лиза. *Современная биомедицина*.
2025;1(1):74–90.
<https://doi.org/10.5922/ATB-2025-1-1-6>

Поступила
15.04.2025 г.
Прошла рецензирование
03.06.2025 г.
Принята к печати
05.06.2025 г.
Опубликована
15.07.2025 г.

© Чумакова С. П., Денисенко О. А.,
Уразова О. И., Шипулин В. М.,
Андреев С. Л., Топоркова А. К.,
Литвинова Л. С., 2025



Original research article

PATHOGENETIC FACTORS OF ISCHAEMIC CARDIOMYOPATHY: RESULTS OF MULTIVARIATE FACTOR ANALYSIS

S. P. Chumakova^{1, 3*}, O. A. Denisenko¹, O. I. Urazova^{1, 4},
V. M. Shipulin², S. L. Andreev², A. K. Toporkova³, L. S. Litvinova³

¹ Siberian State Medical University,
634050, Tomsk, Russia

² Tomsk National Research Medical Center
of the Russian Academy of Sciences,
634050, Tomsk, Russia

³ Immanuel Kant Baltic Federal University,
236041, Kaliningrad, Russia

⁴ Tomsk State University of Control Systems and Radioelectronics,
634050, Tomsk, Russia

* Correspondence: chumakova_s@mail.ru

Background. The pathogenesis of ischemic cardiomyopathy (ICM) is not fully understood.

Aim. This study aims to identify key pathogenetic factors involved in the development of ICMP through multifactorial analysis and to determine the extent of their contribution to disease progression.

Material and methods. The study included 60 patients with coronary heart disease (CHD) and ICMP, and 44 patients with CHD without evidence of cardiomyopathy. Blood and bone marrow samples were analysed by flow cytometry to assess the content of desquamated endothelial cells (DEC); classical, intermediate, non-classical, transitional monocytes; and early and late endothelial progenitor cells (EPC). In plasma and bone marrow supernatant, the concentrations of VEGF-A, SDF-1, MCP-1, M-CSF, GM-CSF, TNF- α , HIF-1 α , IL-6, IL-10, IL-13, and IFN- γ were assessed using immunofluorescence and enzyme-linked immunosorbent assay. Correlation and multivariate factor analysis were performed at $p < 0.05$.

Results. At the blood level, the primary factor terms of influence on ICMP was the concentrations of SDF-1, HIF-1 α , M-CSF and DEC, accounting for 41.8 % of the total variance. The second most influential factor was the concentration of IL-10 and MCP-1 (31.1 %); the third was the content of late endothelial progenitor cells (EPCs) (26.3 %); and the fourth, the levels of IL-6 and IL-13 (21.6 %). In the bone marrow, the most significant factor was the concentrations of IL-10, IFN- γ , IL-13, M-CSF/IL-13, and classical monocytes (47.1 %). The second factor involved non-classical monocytes and TNF- α (35.2 %); the third, VEGF-A, MCP-1, GM-CSF, and HIF-1 α (32.7 %); and the fourth, early EPC and IL-6 (25.5 %). In the bone marrow of patients with CHD without cardiomyopathy, a significant negative correlation was observed between IL-6 and SDF-1 concentrations ($r = -0.781$, $p = 0.013$), while in patients with ICMP, a strong positive correlation was found between IL-6 and MCP-1 ($r = 0.899$, $p = 0.014$).

Conclusions. Pathogenetic factors contributing to the development of ICMP were identified. In the blood, the most significant was an anergic mediator response of HIF-1 α and SDF-1 to hypoxia with hyperproduction of IL-10. In the bone marrow, deficiency of classical monocytes and the ratio of M-CSF/IL-13 under conditions of excess IFN- γ .

Keywords: cytokines, monocyte subpopulations, endothelial progenitor cells, angiogenesis, monocytopoiesis, coronary heart disease

To cite this article:

Chumakova S. P., Denisenko O. A.,
Urazova O. I., Shipulin V. M.,
Andreev S. L., Toporkova A. K.,
Litvinova L. S. Pathogenetic factors of
ischaemic cardiomyopathy: results of
multivariate factor analysis. *Advanced
targets in Biomedicine*. 2025;1(1)74–90.
<https://doi.org/10.5922/ATB-2025-1-1-6>

Received
15.04.2025
Revised
03.06.2025
Accepted
05.06.2025
Published
15.07.2025

© Chumakova S. P., Denisenko O. A.,
Urazova O. I., Shipulin V. M.,
Andreev S. L., Toporkova A. K.,
Litvinova L. S., 2025

Введение

Ишемическая кардиомиопатия (ИКМП) является одной из наиболее частых причин смертности от хронической сердечной недостаточности и представляет собой заболевание, характеризующееся дилатацией камер сердца и систолической дисфункцией левого желудочка на фоне ишемической болезни сердца (ИБС) [1–3]. Данное заболевание по непонятным причинам развивается у 30 % больных, перенесших инфаркт миокарда, и патогенез его до конца не изучен. Показано, что в основе ИКМП лежит диффузный фиброз с преобладанием коллагена типа III над коллагеном типа I, обсуждаются механизмы апоптоза кардиомиоцитов, вазомоторная эндотелиальная дисфункция и сократительная дисфункция миокарда [4–6]. В течение нескольких лет авторы настоящей статьи занимаются изучением роли недостаточности ангиогенеза (относительно степени десквамации эндотелия) в патогенезе ИКМП, дисбалансом его гуморальных факторов, нарушением дифференцировки эндотелиальных прогениторных клеток (ЭПК) и субпопуляций моноцитов в крови и костном мозге. За эти годы были изучены такие параметры, как содержание HIF-1 α , SDF-1, VEGF-A, MCP-1, M-CSF, G-CSF, GM-CSF, IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-13, TNF- α , IFN- γ , десквамированных эндотелиальных клеток (ДЭК), ранних и поздних ЭПК, четырех субпопуляций моноцитов в крови и костном мозге [7–12], а также концентрация PDGF, VEGF-A, TGF- β , HIF-2 α , ангиопоэтина-2, матриксной металлопротеиназы, галектина-3 в крови из кубитальной вены и коронарного синуса [8; 13].

Обилие анализируемых путем сравнительного и корреляционного анализа параметров выявляет их взаимосвязь и различия между группами [14], то есть между больными ИБС, страдающими и не страдающими ИКМП, но не позволяет выделить ведущие механизмы в патогенезе ИКМП. Более того, несколько параметров могут описывать один и тот же патогенетический фактор, суммарное количество которых не так велико, как число всевозможных показателей гомеостаза человека. Сконцентрировать, сжать исходную информацию, объединить априори регистрируемые параметры в факторы и даже установить их степень влияния на признак позволяет факторный анализ многопараметрических систем (многомерный факторный анализ, многофакторный анализ), который не требует выдвижения гипотез, а самостоятельно выявляет их в процессе факторного решения массива данных, после чего исследователь дает им наименование, исходя из сути параметров, составляющих фактор [15]. Применение многофакторного анализа в настоящем исследовании поможет выявить ключевые патогенетические факторы ИКМП и установить вклад каждого из них в развитие болезни.

В связи с этим целью исследования стало выполнение многомерного факторного анализа массива данных нескольких показателей, описывающих развитие ИКМП, для выявления ключевых патогенетических факторов ее развития путем группирования ряда параметров в общий по своей сути фактор и определения степени его влияния на формирование ИКМП.

Материалы и методы

Проведено одномоментное, одноцентровое, наблюдательное исследование с участием 104 больных ИБС, имевших II–IV функциональный класс стенокардии, I–III функциональный класс недостаточности кровообращения по систе-

ме Нью-Йоркской кардиологической ассоциации (New York heart association, NYHA) и инфаркт миокарда в анамнезе. Больные ИБС включали 60 человек с ИКМП (54 мужчин и 6 женщины, 61,0 [56,0; 64,0] год) и 44 человека, не страдающих ИКМП (36 мужчин и 8 женщины, 64,0 [59,5; 68,0] года, $p = 0,110$). Диагностика ИКМП выполнялась согласно критериям G. M. Felker и соавт. (2002) [16]. Всем больным было выполнено коронарное шунтирование со сходным анестезиологическим обеспечением. Больные ИБС получали терапию на основании общепринятых стандартов лечения: антиагреганты, статины, нитраты пролонгированного действия и, по требованию, блокаторы кальциевых каналов, β 1-адреноблокаторы. По клинической характеристике больные ИБС, страдающие и не страдающие ИКМП, были сопоставимыми, кроме различий в значениях фракции выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) — 30,00 [22,00; 36,00] и 59,50 [50,25; 67,00] % ($p < 0,001$) и массы его миокарда — 233,5 [222,3; 265,3] и 187,5 [142,8; 215,0] ($p = 0,001$) соответственно.

Из исследования исключались лица старше 70 лет, с аллергией в стадии обострения, аутоиммунными заболеваниями, иммуносупрессорной терапией, дыхательной недостаточностью, а также отказавшиеся от исследования. У всех участников исследования получено информированное согласие. Исследование выполнено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации и одобрено на заседаниях локального этического комитета СибГМУ (протокол № 9475 от 29 мая 2023 г.).

Материалом исследования служил красный костный мозг (2 мл), взятый у пациентов из разреза грудины во время операции коронарного шунтирования до подключения аппарата искусственного кровообращения, и кровь (5 мл), забранная из кубитальной вены до операции, стабилизированные гепарином в дозе 25 Ед/мл. Из 4 мл крови и 1,5 мл костного мозга получали соответственно плазму и надосадок костного мозга (миелоплазму) путем центрифугирования соответствующего биоматериала в течение 15 мин при 200 g и хранили при -80°C для последующего измерения концентрации HIF-1 α , SDF-1, VEGF-A, MCP-1, M-CSF, GM-CSF, IL-6, IL-10, IL-13, TNF- α , IFN- γ . С этой целью использовали тест-систему для иммунофлуоресцентного мультиплексного анализа «Magnetic Luminex Assay Kit for SDF-1, VEGF-A, MCP-1, M-CSF, GM-CSF, TNF- α , PDGF, SCF» («Cloud-Clone-Corp», США) и наборы для иммуноферментного анализа «Human HIF-1 α ELISA Kit» («Cloud-Clone-Corp», США), «Human IL-13 Platinum ELISA» («eBioscience», Австрия), «Интерлейкин-6-ИФА-БЕСТ», «Интерлейкин-10-ИФА-БЕСТ», «гамма-Интерферон-ИФА-БЕСТ» (ООО «Вектор-БЕСТ», г. Новосибирск). Результат выражали в пг/мл, для HIF-1 α — в нг/мл.

В цельной крови и костном мозге определяли содержание десквамированных эндотелиальных клеток (ДЭК, CD45 $^{-}$ CD146 $^{+}$); классических (CD14 $^{++}$ CD16 $^{-}$), промежуточных (CD14 $^{++}$ CD16 $^{+}$), неклассических (CD14 $^{+}$ CD16 $^{++}$) и переходных (CD14 $^{+}$ CD16 $^{-}$) моноцитов; ранних ЭПК (CD34 $^{+}$ VEGFR2 $^{+}$ CD14 $^{+}$), поздних ЭПК (CD34 $^{+}$ VEGFR2 $^{+}$ CD14 $^{-}$), CD34-VEGFR2 $^{+}$ CD14 $^{+}$ и CD34-VEGFR2 $^{+}$ CD14 $^{-}$ -клеток методом проточной цитофлуориметрии с помощью цитофлуориметра Accuri C6 (BD Biosciens, США), исключая нежизнеспособные клетки путем окрашивания 7AAD «ReadiDrop™ 7-AAD» («Bio-Rad Laboratories, Inc.», США). Количество десквамированных эндотелиальных клеток рассчитывали путем соотношения их числа с общим количеством лейкоцитов, экспрессирующих CD45 $^{+}$ (общее количество лейкоцитов и абсолютное содержание моноцитов в крови оценивали

методом проточной цитометрии с помощью гематологического анализатора XS-1000i «Sysmex Corporation», Япония); результат выражали в $\times 10^5/\text{л}$. При анализе субпопуляций моноцитов за 100 % принимали все клетки, положительные по CD14 (то есть доля каждой субпопуляции от общего числа моноцитов); при анализе субпопуляций VEGFR2⁺-клеток долю каждого из их 4 субтипов умножали на относительное содержание суммарного количества VEGFR2⁺-клеток (вне зависимости от субтипа) в крови/костном мозге (то есть доля каждой субпопуляции от общего числа всех клеток в биоматериале); результаты выражали в %. Для идентификации исследуемых субпопуляций клеток использовали моноклональные антитела CD45-FITC и CD146-Alexa Fluor 647; CD14-FITC и CD16-PE; CD34-PE и VEGFR2(KDR; CD309)-Alexa Fluor 647 («BD Biosciens», США), а также лизирующий раствор («BD Biosciens», США) согласно методике, изложенной в инструкции производителя.

Статистический анализ результатов выполняли с использованием программы Statistica for Windows 10.0, осуществляя многомерный факторный анализ. Поскольку обязательным его условием является объединение двух альтернативных по исходу выборок в одну, то анализ проводился в объединенной выборке больных ИБС, и страдающих, и не страдающих ИКМП. Предварительным этапом проведения многофакторного анализа являлся корреляционный анализ с вычислением коэффициента корреляции Спирмена между анализируемыми параметрами для выявления тесно коррелирующих между собой признаков, один из которых (имеющий меньшее число парных сочетаний с другими параметрами) подлежал исключению из факторного анализа. Кроме того, корреляционный анализ проводился в каждой из двух групп больных ИБС по отдельности для установления различий в характере взаимосвязей и механизмах развития ИБС, осложненной и не осложненной ИКМП. Результаты считали достоверными при $p < 0,05$.

Описание результатов исследований

В ходе подготовки выборок к многомерному факторному анализу из исследования были удалены данные о концентрации IFN- γ в крови как имевшие низкую дисперсию ввиду обнаружения нулевых значений у большинства больных ИБС. Также устранялись параметры, тесно коррелирующие между собой, поскольку согласно требованиям многофакторного анализа в нем не должны участвовать показатели, коррелирующие с любым другим анализируемым параметром с коэффициентом корреляции $r > 0,70$. Данное требование обусловило удаление из многофакторного анализа нескольких параметров: среди показателей крови — это общая численность VEGFR2⁺-клеток (коррелировала с долей CD34⁺VEGFR2⁺CD14⁺-клеток с $r = 0,77$, $p < 0,05$ и с долей CD34⁺VEGFR2⁺CD14⁺-клеток с $r = 0,93$, $p < 0,05$), количество классических моноцитов (коррелировало с долей промежуточных моноцитов с $r = -0,96$, $p < 0,05$); среди показателей костного мозга — это общая численность VEGFR2⁺-клеток (коррелировала с долей CD34⁺VEGFR2⁺CD14⁺-клеток с $r = 0,94$, $p < 0,05$), количество переходных моноцитов (коррелировало с долей классических моноцитов с $r = -0,96$, $p < 0,05$; промежуточных моноцитов с $r = -0,78$, $p < 0,05$; концентрацией IL-13 в крови с $r = 0,73$, $p < 0,05$;) и промежуточных моноцитов (коррелировало с уровнем IL-6 в крови с $r = 0,70$, $p < 0,05$).

В ходе анализа совокупности изученных параметров, ввиду их многочисленности и разнородности пропусков вариантов в выборке по каждому показате-

лю, матрица исследования общего массива всех параметров оказалась плохо обусловленной и не позволила осуществить многофакторный анализ во всем комплексе изучаемых показателей одновременно. Поэтому он был разделен на 2 группы параметров как в крови, так и в костном мозге: 1) субпопуляционный состав моноцитов и содержание про- и противовоспалительных цитокинов; 2) субпопуляционный состав VEGFR2⁺-клеток и содержание цитокинов, HIF-1 α . Это обеспечило возможность выполнения многомерного факторного анализа.

Многомерный факторный анализ установил на уровне каждого типа ткани высокие факторные нагрузки для нескольких показателей (значимыми принимаются параметры с факторной нагрузкой более 0,7), объединенных в четыре фактора, влияющих на развитие ИКМП при ИБС.

На уровне периферического кровотока первый и наиболее значимый фактор сочетает в себе содержание SDF-1, HIF-1 α , M-CSF, ДЭК (обуславливает 41,8 % дисперсии матрицы параметров, подвергнутых анализу, табл. 1), второй — IL-10 и MCP-1 (обуславливает 31,1 % дисперсии матрицы, таблица 2), третий — поздних ЭПК (26,3 %, табл. 2), четвертый, наименее значимый — IL-6 и IL-13 (21,6 %, табл. 1).

Таблица 1

**Многомерный факторный анализ показателей
субпопуляционного состава VEGFR2⁺-клеток и цитокинов,
HIF-1 α в крови в выборке больных ишемической болезнью сердца,
страдающих и не страдающих ишемической кардиомиопатией**

Table 1

**Multivariate factor analysis of indicators of the subpopulation composition
of VEGFR2⁺-cells and cytokines, HIF-1 α in the blood of patients
with coronary heart disease, suffering and not suffering
from ischemic cardiomyopathy**

Признак	Фактор 1	Фактор 2
M-CSF	- 0,789757	0,516562
GM-CSF	0,402668	0,337866
SDF-1	- 0,985492	0,086641
VEGF	- 0,689751	0,601910
IL-6	0,622175	0,191338
Поздние ЭПК	- 0,129752	0,871686
Ранние ЭПК	0,141731	0,439718
CD34 ⁺ VEGFR2 ⁺ CD14 ⁺ -клетки	- 0,689013	- 0,643896
CD34 ⁺ VEGFR2 ⁺ CD14 ⁻ -клетки	- 0,653661	- 0,654823
MCP-1	- 0,339659	0,480583
ДЭК	- 0,769226	- 0,434508
HIF-1 α	- 0,863162	0,392148
Общая дисперсия	5,010971	3,157526
Доля дисперсии, обусловленная фактором, %	41,76	26,31

Таблица 2

Многомерный факторный анализ показателей субпопуляционного состава моноцитов и про/противовоспалительных цитокинов в крови в выборке больных ишемической болезнью сердца, страдающих и не страдающих ишемической кардиомиопатией

Table 2

Multivariate factor analysis of indicators of the subpopulation composition of monocytes and pro/anti-inflammatory cytokines in the blood of patients with coronary heart disease, suffering and not suffering from ischemic cardiomyopathy

Признак	Фактор 1	Фактор 2
IL-6	0,017653	0,723678
TNF- α	-0,584528	-0,580064
Промежуточные моноциты	-0,587769	-0,016171
Неклассические моноциты	-0,625067	0,496243
Переходные моноциты	0,543148	0,287806
IL-10	0,886865	-0,090849
IL-13	-0,245036	-0,753710
M-CSF/ IL-13	0,009635	0,153114
MCP-1	0,762555	-0,410554
Общая дисперсия	2,801330	1,957866
Доля дисперсии, обусловленная фактором, %	31,13	21,75

В костном мозге первый и наиболее значимый фактор сочетает в себе содержание IFN- γ , классические моноциты, IL-10, IL-13, M-CSF/IL-13 (обуславливает 47,1 % дисперсии матрицы параметров, подвергнутых анализу, таблица 3), второй — неклассических моноцитов и TNF- α (обуславливает 35,2 % дисперсии матрицы, таблица 3), третий — VEGF-A, MCP-1, GM-CSF, HIF-1 α (32,7 %, таблица 4), четвертый, наименее значимый — ранних ЭПК и IL-6 (25,5 %, таблица 4).

Таблица 3

Многомерный факторный анализ показателей субпопуляционного состава моноцитов и про/противовоспалительных цитокинов в костном мозге в выборке больных ишемической болезнью сердца, страдающих и не страдающих ишемической кардиомиопатией

Table 3

Multivariate factor analysis of indicators of the subpopulation composition of monocytes and pro/anti-inflammatory cytokines in the bone marrow of patients with coronary heart disease, suffering and not suffering from ischemic cardiomyopathy

Признак	Фактор 1	Фактор 2
IL-6	0,618113	0,529533
TNF- α	0,123090	0,950058
IFN- γ	-0,884876	0,309996

Окончание табл. 3

Признак	Фактор 1	Фактор 2
Классические моноциты	0,859993	– 0,214114
Неклассические моноциты	– 0,026364	– 0,961542
IL-10	– 0,810337	0,223212
IL-13	– 0,795016	0,367226
M-CSF/ IL-13	0,746244	0,618657
Общая дисперсия	3,766080	2,816936
Доля дисперсии, обусловленная фактором, %	47,08	35,21

Таблица 4

Многомерный факторный анализ показателей субпопуляционного состава VEGFR⁺-клеток и цитокинов, HIF-1 α в костном мозге в выборке больных ишемической болезнью сердца, страдающих и не страдающих ишемической кардиомиопатией

Table 4

Multivariate factor analysis of indicators of the subpopulation composition of VEGFR²⁺-cells and cytokines, HIF-1 α in the bone marrow of patients with coronary heart disease, suffering and not suffering from ischemic cardiomyopathy

Признак	Фактор 1	Фактор 2
M-CSF	0,466560	0,092418
GM-CSF	0,717839	0,305336
SDF-1	0,197031	– 0,473935
VEGF-A	0,912086	0,020773
MCP-1	0,762011	0,354644
IL-6	0,465386	0,786140
Поздние ЭПК	– 0,488160	0,683731
Ранние ЭПК	– 0,398161	0,812886
CD34 ⁺ VEGFR2 ⁺ CD14 ⁺ -клетки	0,141943	0,282651
CD34 ⁺ VEGFR2 ⁺ CD14 ⁺ -клетки	– 0,520427	0,692852
HIF-1 α	0,710851	0,216528
Общая дисперсия	3,594072	2,805698
Доля дисперсии, обусловленная фактором, %	32,67	25,51

В рамках работы был проведен корреляционный анализ между численностью моноцитов различных субпопуляций и концентрацией цитокинов, HIF-1 α в крови у пациентов обеих групп. Для больных ИБС без кардиомиопатии выявлена только одна отрицательная корреляционная зависимость между количеством промежуточных моноцитов и концентрацией HIF-1 α ($r = -0,787$, $p = 0,012$), тогда как для пациентов с ИКМП подобных связей не обнаружено. В костном мозге анализ аналогичных параметров у больных ИБС без кардиомиопатии установил две корреляционные зависимости для TNF- α : положительную с количеством классических моноцитов и отрицательную с содержанием переходных моноцитов (соответственно $r = 0,900$, $p = 0,037$ и $r = -0,900$, $p = 0,036$). У пациентов с ИКМП в костном мозге содержание классических моноцитов положительно коррелировало с концентрацией HIF-1 α и отрицательно — с концентрацией

IL-13 (соответственно $r = 1,000$, $p = 0,010$ и $r = -0,983$, $p = 0,010$); для доли неклассических моноцитов отмечена обратная зависимость с коэффициентом M-CSF/IL-13 ($r = -0,972$, $p = 0,011$).

Выполнение корреляционного анализа между концентрацией различных цитокинов установило, что больные ИБС без кардиомиопатии характеризовались наличием прямой зависимости между уровнем следующих медиаторов в крови: M-CSF и VEGF-A ($r = 0,906$; $p < 0,001$); M-CSF и HIF-1 α ($r = 0,650$; $p = 0,022$). У пациентов с ИКМП в крови концентрация M-CSF положительно коррелировала с концентрацией SDF-1, GM-CSF, MCP-1, TNF- α ($r = 0,718$, $p = 0,006$; $r = 0,592$, $p = 0,043$; $r = 0,476$, $p = 0,034$; $r = 0,755$, $p = 0,007$ соответственно) и отрицательно — с концентрацией IL-6 ($r = -0,561$, $p = 0,008$). Концентрация SDF-1 прямо коррелировала с содержанием VEGF-A ($r = 0,795$, $p = 0,002$), тогда как уровень HIF-1 α оказался положительно взаимосвязанным с концентрацией IL-10 ($r = 0,501$, $p = 0,048$). Концентрация GM-CSF была отрицательно взаимосвязана с концентрацией MCP-1 ($r = -0,661$, $p = 0,038$). В костном мозге для больных ИБС без кардиомиопатии установлена положительная связь между содержанием M-CSF и MCP-1 ($r = 0,782$, $p = 0,013$); SDF-1 и VEGF-A ($r = 0,622$, $p = 0,041$); HIF-1 α и VEGF-A ($r = 0,639$, $p = 0,034$); IL-6 и IL-10 ($r = 0,729$, $p = 0,040$); HIF-1 α и IL-10 ($r = 0,639$, $p = 0,034$). Отрицательная корреляционная связь у данной когорты больных выявлена между концентрацией M-CSF и HIF-1 α ($r = -0,461$, $p = 0,027$), M-CSF и IL-10 ($r = -0,461$, $p = 0,027$), SDF-1 и IL-6 ($r = -0,781$, $p = 0,013$) в миелоидной ткани. Пациенты с ИКМП характеризовались наличием прямой связи между содержанием следующих медиаторов в костном мозге: GM-CSF и HIF-1 α ($r = 0,897$, $p = 0,015$); SDF-1 и VEGF-A ($r = 0,857$, $p = 0,002$); IL-6 и MCP-1 ($r = 0,899$, $p = 0,014$); TNF- α и IFN- γ ($r = 0,699$, $p = 0,017$). Установлено также, что коэффициент M-CSF/IL-13 положительно коррелировал с уровнем HIF-1 α ($r = 0,684$, $p = 0,042$) и IL-6 ($r = 0,829$, $p = 0,042$).

В объединенной выборке больных ИБС (вне зависимости от наличия ИКМП) были установлены для крови отрицательные связи между долей классических и промежуточных моноцитов ($r = -0,956$; $p < 0,001$); неклассических моноцитов и концентрацией IL-10 ($r = -0,655$; $p = 0,003$); положительные зависимости — между содержанием ранних ЭПК и поздних ЭПК ($r = 0,488$; $p = 0,016$), а также между содержанием последних и MCP-1 ($r = 0,440$; $p = 0,046$). Вместе с тем выявлены положительные связи между концентрацией M-CSF и следующих медиаторов: SDF-1 ($r = 0,589$, $p = 0,001$); VEGF-A ($r = 0,596$, $p = 0,001$); HIF-1 α ($r = 0,531$, $p = 0,009$); TNF- α ($r = 0,597$, $p = 0,003$). Помимо этого обнаружена прямая связь между уровнем SDF-1 и VEGF-A ($r = 0,669$, $p = 0,010$); HIF-1 α и VEGF-A ($r = 0,523$, $p = 0,006$). В костном мозге для объединенной выборки больных ИБС была установлена прямая взаимосвязь между числом классических и промежуточных моноцитов ($r = 0,663$; $p = 0,037$); для переходных моноцитов была установлена положительная связь их относительного содержания с концентрацией IL-13 ($r = 0,735$; $p = 0,038$) и отрицательная — с долей классических и промежуточных моноцитов ($r = -0,964$; $p < 0,001$; $r = -0,784$; $p = 0,007$ соответственно). Также в костном мозге выявлены положительные корреляционные связи между содержанием поздних ЭПК и HIF-1 α ($r = 0,801$; $p < 0,001$); SDF-1 и VEGF-A ($r = 0,670$; $p = 0,01$); IFN- γ и TNF- α ($r = 0,593$; $p = 0,010$) и между концентрацией IL-6 и коэффициентом M-CSF/IL-13 ($r = 0,572$; $p = 0,020$).

Обсуждение результатов

В рамках исследования был проведен многомерный факторный анализ, который позволил интегрировать полученные факты и подтвердить предполагаемые закономерности, полученные ранее с помощью сравнительного анализа. Так, нами было показано, что у пациентов с ИКМП в периферической крови понижено содержание неклассических моноцитов в условиях избытка IL-10 и ДЭК. При этом отсутствует характерное для ИБС без кардиомиопатии увеличение содержания промежуточных моноцитов, ранних ЭПК, HIF-1 α , SDF-1, GM-CSF, G-CSF, MCP-1. Уровень поздних ЭПК, ДЭК, классических и переходных моноцитов, а также IL-6, IL-10, IL-13, TNF- α , IFN- γ , VEGF-A в крови у больных ИБС обеих групп оказался сопоставимым, а у пациентов без кардиомиопатии обнаруживался даже дефицит M-CSF [7; 9–11]. В периферической крови на основании результатов многомерного факторного анализа были выделены 4 фактора, детерминирующих 41,76; 31,13; 26,31 и 21,75 % дисперсии измерений анализируемых показателей при ИБС, осложненной и не осложненной ИКМП (табл. 1, 2). Согласно компонентам патогенетических факторов ИКМП можно дать им следующие наименования в порядке значимости.

1. Наиболее значимый фактор (дисперсия 41,76 %, таблица 1) включал в себя содержание в крови M-CSF, SDF-1, HIF-1 α , ДЭК и был назван «дисбаланс медиаторного ответа на гипоксию вследствие повреждения эндотелия». Другими словами, повреждение эндотелия, которое характеризуется накоплением в крови ДЭК (присутствует в обеих группах ИБС), отражает атеросклероз, приводящий к гипоксии и, как следствие, к повышению концентрации HIF-1 α [17]. Но это развивается только у больных ИБС без кардиомиопатии [10; 12; 13]. Последний активирует высвобождение SDF-1 и модулирует концентрацию M-CSF как медиатора дифференцировки моноцитов [18; 19]. Однако такой ответ не формируется у пациентов с ИКМП [7; 9; 10; 12; 13].

2. Второй фактор (дисперсия 31,13 %, таблица 2), включающий в себя содержание в крови IL-10 и MCP-1, вероятно, указывает на «нарушение хемотаксиса моноцитарных клеток (моноцитов, ранних ЭПК), обусловленное иммуносупрессией», очевидно, у пациентов с ИКМП. Это подтверждается данными сравнительного анализа: у пациентов с ИКМП зафиксирован избыток иммуносупрессорного IL-10 при нормальном уровне MCP-1 в крови, а у больных ИБС без кардиомиопатии — нормальный уровень IL-10 на фоне отчетливой тенденции к накоплению MCP-1 в крови [10; 12].

3. Третий фактор (дисперсия 26,31 %, таблица 1) был представлен поздними ЭПК. Вероятно, этот фактор тоже обуславливал формирование ИКМП и может быть назван «недостаточное участие поздних ЭПК в репарации сосудов». Несмотря на сопоставимые уровни поздних ЭПК и в крови, и в костном мозге между группами больных ИБС и их нормальное содержание в крови у пациентов обеих групп, только у больных ИБС без кардиомиопатии была зарегистрирована отчетливая тенденция к увеличению их числа, которая до введения поправки Бенджамини — Хохберга регистрировалась как статистически значимый избыток поздних ЭПК в крови, чего не отмечалось у пациентов с ИКМП [11].

4. Наименее влиятельный фактор в крови (дисперсия 21,75 %, таблица 2) включал содержание в крови IL-6 и IL-13 и, скорее всего, указывал на «наличие хронического воспаления по Th2-пути», формирующегося у больных ИБС и более характерного для ИКМП. Наименование фактора складывается из того, что,

хотя по концентрации IL-6 и IL-13 в крови не было различий между группами пациентов [7; 9; 10], они оба относятся к цитокинам Th2-пути (IL-6 больше характерен для хронического или завершения острого воспаления) [20; 21], а избыток IL-10 как еще одного Th2-ассоциированного цитокина [22; 23] отмечался именно у пациентов с ИКМП [10].

В костном мозге нами было ранее установлено, что у пациентов с ИКМП повышено содержание MCP-1 и переходных моноцитов в сочетании с низким соотношением M-CSF/IL-13, числом классических и промежуточных моноцитов [7; 10; 12]. При этом каких-либо различий по содержанию HIF-1 α , SDF-1, VEGF-A, M-CSF, GM-CSF, G-CSF, IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-13, TNF- α , IFN- γ , неклассических моноцитов, ранних и поздних ЭПК в костном мозге обнаружено не было [7; 9–11]. На основании результатов многомерного факторного анализа параметров костного мозга также были выделены 4 фактора (табл. 3, 4). Согласно компонентам (параметрам, имеющим факторные нагрузки более 0,70) патогенетических факторов развития ИКМП можно дать им следующие наименования в порядке значимости.

1. Наиболее значимый фактор в костном мозге (дисперсия 47,08 %, таблица 3) включал в себя содержание IFN- γ , классических моноцитов, IL-10, IL-13, M-CSF/IL-13. Этот фактор можно назвать «недостаточное созревание классических моноцитов в результате иммуносупрессии» у пациентов с ИКМП. Это согласуется с данными сравнительного и корреляционного анализа: у пациентов с ИКМП обнаруживалось меньшее, чем у больных ИБС без кардиомиопатии, содержание классических моноцитов, а IL-13 угнетал их образование (отрицательная корреляция между содержанием IL-13 и классических моноцитов в костном мозге), так как обнаруживалось меньшее значение M-CSF/IL-13, но большая концентрация IFN- γ в костном мозге при ИКМП [7; 10].

2. Второй фактор (дисперсия 35,21 %, таблица 3) объединял содержание в костном мозге неклассических моноцитов и TNF- α и, вероятно, отражал «нарушение дифференцировки неклассических моноцитов под действием TNF- α », который за счет взаимодействия со своим рецептором типа TNFR1 способен угнетать дифференцировку гемопоэтических клеток, в том числе моноцитов [24].

3. Третий фактор (дисперсия 32,67 %, таблица 4) включал в себя содержание в костном мозге HIF-1 α , GM-CSF, VEGF-A, MCP-1 и может быть назван «дисбаланс медиаторов в ответ на гипоксию с нарушением хемотаксиса моноцитарных клеток (моноцитов, ранних ЭПК)». Согласно корреляционному анализу при ИКМП в костном мозге HIF-1 α способствует синтезу GM-CSF, но теряет связь с VEGF-A (характерна для ИБС без кардиомиопатии), что сочетается с гиперпродукцией MCP-1 в миелоидной ткани [9; 10; 12].

4. Наименее значимый фактор (дисперсия 25,51 %, таблица 4) состоял из содержания в костном мозге IL-6 и ранних ЭПК и получил наименование «задержка мобилизации ранних ЭПК из костного мозга ввиду извращения эффектов IL-6». Несмотря на сопоставимую между группами пациентов концентрацию IL-6 в костном мозге, у больных ИБС без кардиомиопатии он негативно влиял на уровень SDF-1 в миелоидной ткани, очевидно, снижая костномозговую фиксацию и облегчая мобилизацию ЭПК, а у пациентов с ИКМП — повышал концентрацию MCP-1, который как специфический для моноцитов хемотактант [25; 26] аккумулировал ранние ЭПК, являющиеся моноцитарными клетками [27; 28].

Содружественная интерпретация данных многомерного факторного анализа, корреляционного и ранее выполненного сравнительного анализа позволяет

уточнить наименование патогенетических факторов ИКМП. Так, саногенез инфаркта миокарда (является триггером развития ИКМП), возникшего на фоне атеросклероза коронарных артерий, закономерно сопровождается компенсаторной гипертрофией жизнеспособной части сердечной мышцы, что требует достаточной трофики для обеспечения пластических процессов и достаточной оксигенации для сокращения миокарда [29]. У большей части больных в постинфарктном периоде атерогенез детерминирует накопление провоспалительных промежуточных моноцитов в крови при нормальном количестве протективных неклассических клеток [8], что способствует увеличению объема бляшек, но ограничивает распространение атеросклероза, и поражаются только крупные артерии. Усиление ангиогенеза у этих пациентов вызвано адекватной реакцией организма на гипоксию в виде гиперпродукции проангиогенных HIF-1 α и SDF-1 на фоне повышенной мобилизации ранних ЭПК в кровь, что обеспечивает перфузию миокарда и формирует ИБС без кардиомиопатии [12].

У части больных ИБС в постинфарктном периоде запускаются патогенетические факторы развития ИКМП как на уровне костного мозга, так и в крови. На уровне костного мозга ими являются (согласно многомерному факторному анализу) недостаточное созревание классических моноцитов под действием IL-13 в условиях избытка IFN- γ и с низким соотношением M-CSF/IL-13; HIF-1 α -зависимая дискоординация провоспалительного и проангиогенного ответа на гипоксию с нарушением MCP-1-зависимого хемотаксиса; задержка мобилизации ранних ЭПК из костного мозга ввиду извращения эффектов IL-6, стимулирующего синтез MCP-1 (табл. 3, 4). На уровне крови патогенетическими факторами ИКМП становятся (согласно многомерному факторному анализу) анергия медиаторного ответа HIF-1 α , SDF-1 на гипоксию вследствие атеросклероза, индуцирующая гиперпродукцию IL-10 в тканях; нарушение MCP-1-зависимого хемотаксиса моноцитарных клеток (неклассических) вследствие иммуносупрессии из-за избытка IL-10 (отрицательная корреляция между содержанием IL-10 и неклассических моноцитов в крови); недостаточное участие поздних ЭПК в репарации сосудов (табл. 1, 2). Поэтому при нормальной численности промежуточных моноцитов в крови дефицит протективных неклассических клеток у пациентов с ИКМП [8], вероятно, способствует распространению атеросклероза на более мелкие коронарные артерии. Усиления ангиогенеза у этих больных, очевидно, не происходит вследствие неадекватного ответа организма на гипоксию, характеризующегося физиологическим уровнем проангиогенных HIF-1 α , SDF-1, ранних ЭПК в крови [12], что приводит к гипоперфузии гипертрофированного миокарда, его сократительной дисфункции и развитию ИКМП.

Заключение

Таким образом, патогенетические факторы развития ИКМП в крови и костном мозге различаются: в крови наиболее значима анергия медиаторного ответа при участии HIF-1 α , SDF-1 на гипоксию и атерогенез с гиперпродукцией IL-10 в тканях, меньший вклад вносят нарушение MCP-1-зависимого хемотаксиса клеток вследствие избытка IL-10 и недостаточное участие поздних ЭПК в репарации сосудов; в костном мозге наиболее значимо недостаточное созревание классических моноцитов под действием IL-13 в условиях избытка IFN- γ и низкого соотношения M-CSF/IL-13, меньший вклад вносят HIF-1 α -зависимая

дискоординация провоспалительного и проангиогенного ответа на гипоксию при нарушении МСР-1-зависимого хемотаксиса и задержка мобилизации ранних ЭПК из костного мозга под действием ИЛ-6. Выявление наиболее значимых факторов патогенеза ИКМП, то есть ключевых звеньев в иммунопатогенезе и дезадаптации организма человека к гипоксии в условиях атеросклероза при ИКМП, устанавливает приоритет мишеней для разработки патогенетически обусловленной терапии данного заболевания.

Благодарности. Коллектив авторов выражает искреннюю благодарность директору и сотрудникам Центра иммунологии и клеточных биотехнологий БФУ им. И. Канта: канд. биол. наук, старшему научному сотруднику, Н. М. Тодосенко и канд. биол. наук, научному сотруднику В. В. Малащенко за помощь в проведении мультиплексного анализа.

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-25-20038, <https://rscf.ru/project/22-25-20038/> и средств Администрации Томской области.

Конфликт интересов. Л. С. Литвинова является главным редактором журнала. Остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Acknowledgments. The authors express their sincere gratitude to the director and staff of the Center for Immunology and Cellular Biotechnology of the I. Kant Baltic Federal University: PhD in Biology, Senior Researcher, N.M. Todosenko and PhD in Biology, Researcher V. V. Malashchenko for their assistance in the war of multiplex analysis.

Funding. The study was supported by a grant from the Russian Science Foundation № 22-25-20038, <https://rscf.ru/project/22-25-20038/> and funds from the Tomsk Region Administration.

Conflict of Interest. L. S. Litvinova is the editor-in-chief of the journal. The remaining authors declare no conflict of interest.

Список литературы

1. Cabac-Pogorevici I., Muk B., Rustamova Y., Kalogeropoulos A., Tzeis S., Vardas P. Ischaemic cardiomyopathy. Pathophysiological insights, diagnostic management and the roles of revascularisation and device treatment. Gaps and dilemmas in the era of advanced technology. *Eur. J. Heart Fail.* 2020, 22(5), 789–799, DOI: 10.1002/ejhf.1747.
2. Liga R., Colli A., Taggart D. P., Boden W. E., De Caterina R. Myocardial Revascularization in Patients With Ischemic Cardiomyopathy: For Whom and How. *J. Am. Heart Assoc.* 2023, 12(6), e026943, DOI: 10.1161/JAHA.122.026943.
3. Pastena P., Frye J. T., Ho C., Goldschmidt M. E., Kalogeropoulos A. P. Ischemic cardiomyopathy: epidemiology, pathophysiology, outcomes, and therapeutic options. *Heart Fail. Rev.* 2024, 1, 287–299, DOI: 10.1007/s10741-023-10377-4.
4. Стельмашенко А. И., Беляева С. А., Карпов Р. М., Андреев С. Л. Оценка состояния экстрацеллюлярного матрикса миокарда у пациентов с ишемической кардиомиопатией. *Морфологический альманах имени В. Г. Ковешникова.* 2021, 4, 65–71.

5. Ungvari Z., Tarantini S., Kiss T., Wren J. D., Giles C. B., Griffin C. T., et al. Endothelial dysfunction and angiogenesis impairment in the ageing vasculature. *Nat. Rev. Cardiol.* 2018, 15(9), 555–565, DOI: 10.1038/s41569-018-0030-z.
6. Zhang J. Biomarkers of endothelial activation and dysfunction in cardiovascular diseases. *Rev. Cardiovasc. Med.* 2022, 23(2), 73, DOI: 10.31083/j.rcm2302073.
7. Urazova O., Chumakova S., Vins M., Maynagasheva E., Shipulin V., Pryahin A., et al. Characteristics of humoral regulation of differentiation of bone marrow monocyte subpopulations in patients with ischemic cardiomyopathy. *Int. J. Biomed.* 2019, 9(2), 91–96, DOI:10.21103/Article9(2)_OA1.
8. Chumakova S., Urazova O., Vins M., Kolobovnikova Y., Churina E., Novitskiy V., et al. Galectin 3 and non-classical monocytes of blood as myocardial remodeling factors at ischemic cardiomyopathy. *Int. J. Cardiol. Heart Vasc.* 2021, 33, 100766, DOI: 10.1016/j.ijcha.2021.100766 .
9. Денисенко О. А., Чумакова С. П., Уразова О. И., Шипулин В. М., Пряхин А. С. Цитокины и HIF-1 α как факторы дисрегуляции миграции и дифференцировки моноцитарных клеток-предшественниц эндотелиоцитов в патогенезе ишемической кардиомиопатии. *Acta Biomedica Scientifica.* 2022, 7(5-2), 21–30, DOI: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.3
10. Чумакова С. П., Уразова О. И., Денисенко О. А., Винс М. В., Шипулин В. М., Пряхин А. С., et al. Цитокины в механизмах регуляции моноцитопоеза при ишемической болезни сердца. *Гематология и трансфузиология.* 2022, 67(4), 511–524, DOI: 10.35754/0234-5730-2022-67-4-511-524.
11. Чумакова С. П., Уразова О. И., Шипулин В. М., Денисенко О. А., Гладковская М. В., Андреев С. Л., и др. Роль медиаторов ангиогенеза в мобилизации ранних и поздних эндотелиальных прогениторных клеток из костного мозга при ишемической болезни сердца. *Вестник Российской академии медицинских наук.* 2023, 78(6), 549–559, DOI: 10.15690/vramn12452.
12. Чумакова С. П., Денисенко О. А., Уразова О. И., Шипулин В. М., Андреев С. Л., Винс М. В., и др. Роль MCP-1 и SDF-1 в нарушении мобилизации эндотелиальных прогениторных клеток из костного мозга при ишемической болезни сердца. *Медицинская иммунология.* 2024, 26(5), 1053–1060, DOI: 10.15789/1563-0625-TRO-16762.
13. Chumakova S. P., Urazova O. I., Shipulin V. M., Andreev S. L., Denisenko O. A., Gladkovskaya M. V., et al. Role of angiopoietic coronary endothelial dysfunction in the pathogenesis of ischemic cardiomyopathy. *Biomedicines.* 2023, 11(7), 1950, DOI: 10.3390/biomedicines11071950.
14. Петри А., Сэбин К. Наглядная Медицинская статистика: перевод с англ.; под ред. В. П. Леонова. – 4-е изд., перераб. и доп. ГОЭТАР-Медиа: Москва. 2021, 232, DOI: 10.33029/9704-5904-1-2021-NMS-1-232.
15. Овсянников Г. Н. Факторный анализ в доступном изложении: Изучение многопараметрических систем и процессов. Издательство «Ленанд»: Москва. 2022, 176, ISBN: 9785951932112.
16. Felker G. M., Shaw L. K., O'Connor C. M. A standardized definition of ischemic cardiomyopathy for use in clinical research. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2002, 39(2), 210–218, DOI: 10.1016/s0735-1097(01)01738-7.
17. Sato T., Takeda N. The roles of HIF-1 α signaling in cardiovascular diseases. *J. Cardiol.* 2023, 81(2), 202–208, DOI: 10.1016/j.jjcc.2022.09.002.

18. Ushach I., Zlotnik A. Biological role of granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) on cells of the myeloid lineage. *J. Leukoc. Biol.* 2016, 100(3), 481–489, DOI: 10.1189/jlb.3RU0316-144R.
19. Jiang Q., Huang K., Lu F., Deng S., Yang Z., Hu S. Modifying strategies for SDF-1/CXCR4 interaction during mesenchymal stem cell transplantation. *Gen. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2022, 70(1), 1–10, DOI: 10.1007/s11748-021-01696-0.
20. Feng Y., Ye D., Wang Z., Pan H., Lu X., Wang M., et al. The Role of Interleukin-6 Family Members in Cardiovascular Diseases. *Front. Cardiovasc. Med.* 2022, 9, 818890, DOI: 10.3389/fcvm.2022.818890.
21. Castro C. A., Buzinari T. C., Lino R. L. B., Araújo H. S. S., Aníbal F. F., Verzola R. M. M., et al. Profile of IL-6 and TNF in Foam Cell Formation: An Improved Method Using Fluorescein Isothiocyanate (FITC) Probe [Article in Portuguese, English]. *Arq. Bras. Cardiol.* 2022, 119(4), 533–541, DOI: 10.36660/abc.20210682.
22. Wang X., Wong K., Ouyang W., Rutz S. Targeting IL-10 Family Cytokines for the Treatment of Human Diseases. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2019, 11(2), a028548, DOI: 10.1101/cshperspect.a028548.
23. Proto J. D., Doran A. C., Gusarova G. A., Yurdagul A., Sozen E., Subramanian M., et al. Regulatory T Cells Promote Macrophage Efferocytosis during Inflammation Resolution. *Immunity.* 2018, 49, 1–12, DOI: 10.1016/j.immuni.2018.07.015.
24. Tian M., Yuan Y. C., Li J. Y., Gionfriddo M. R., Huang R. C. Tumor necrosis factor- α and its role as a mediator in myocardial infarction: A brief review. *Chronic Dis. Transl. Med.* 2015, 1(1), 18–26, DOI: 10.1016/j.cdtm.2015.02.002.
25. Singh S., Anshita D., Ravichandiran V. MCP-1: Function, regulation, and involvement in disease. *Int. Immunopharmacol.* 2021, 101, Part B, 107598, DOI: 10.1016/j.intimp.2021.107598.
26. Teh Y. C., Ding J. L., Ng L. G., Chong S. Z. Capturing the fantastic voyage of monocytes through time and space. *Front. Immunol.* 2019, 10, 834. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00834.
27. Chopra H., Hung M. K., Kwong D. L. W., Zhang C. F., Pow E. H. N. Insights into endothelial progenitor cells: origin, classification, potentials, and prospects. *Stem Cells Intl.* 2018, 2018, 9847015, DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/9847015>.
28. Денисенко О. А., Чумакова С. П., Уразова О. И. Эндотелиальные прогениторные клетки: происхождение и роль в ангиогенезе при сердечно-сосудистой патологии. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины.* 2021, 36(2), 23–29, DOI: 10.29001/2073-8552-2021-36-2-23-29.
29. Martín-Bórnez M., Falcón D., Morrugares R., Siegfried G., Khatib A. M., Rosado J. A., et al. New Insights into the Reparative Angiogenesis after Myocardial Infarction. *Int. J. Mol. Sci.* 2023, 24(15), 12298, DOI: 10.3390/ijms241512298.

Об авторах

Светлана Петровна Чумакова, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры патофизиологии Сибирского государственного медицинского университета; профессор научно-образовательного центра «Стоматология» Балтийского федерального университета им. И. Канта, Россия.

ORCID: 0000-0003-3468-6154

Ольга Анатольевна Денисенко, соискатель кафедры патофизиологии Сибирского государственного медицинского университета.

ORCID: 0000-0003-4524-8491

Ольга Ивановна Уразова, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующая кафедрой патофизиологии Сибирского государственного медицинского университета; ведущий научный сотрудник научно-инжинирингового центра «Интеллектуальные системы доверенного взаимодействия» Томского государственного университета систем управления и радиоэлектроники, Россия.

ORCID: 0000-0002-9457-8879

Владимир Митрофанович Шипулин, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник НИИ кардиологии ФГБНУ — филиала Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук, Россия.

ORCID: 0000-0003-1956-0692

Сергей Леонидович Андреев, канд. мед. наук, врач — сердечно-сосудистый хирург, старший научный сотрудник отделения сердечно-сосудистой хирургии НИИ кардиологии — филиала Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук, Россия.

ORCID: 0000-0003-4049-8715

Анастасия Константиновна Топоркова, кандидат медицинских наук, старший преподаватель научно-образовательного центра «Стоматология» Балтийского федерального университета им. И. Канта, Россия.

ORCID: 0009-0001-5215-877X

Лариса Сергеевна Литвинова, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры фундаментальной медицины и директор Центра иммунологии и клеточных биотехнологий Балтийского федерального университета им. И. Канта, Россия.

ORCID: 0000-0001-5231-6910

The authors

Svetlana P. Chumakova, Doctor of Sci. (Medicine), Associate Professor, Professor of the Pathophysiology Division, Siberian State Medical University; Professor of the Scientific and Educational Center “Dentistry”, Immanuel Kant Baltic Federal University, Russia.

ORCID: 0000-0003-3468-6154

Olga A. Denisenko, applicant of the Pathophysiology Division, Siberian State Medical University, Russia.

ORCID: 0000-0003-4524-8491

Olga I. Urazova, Doctor of Sci. (Medicine), Professor, Corresponding Member of RAS, Head of the Pathophysiology Division, Siberian State Medical University; Leading Researcher of the Scientific and Engineering Center “Intelligent Systems of Trusted Interaction”, Tomsk State University of Control Systems and Radioelectronics, Russia.

ORCID: 0000-0002-9457-8879

Vladimir M. Shipulin, Doctor of Sci. (Medicine), Professor, Honored Scientist of Russia, Chief Researcher Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Russia.

ORCID: 0000-0003-1956-0692

Sergey L. Andreev, Cand. of Sci. (Medicine), Cardiovascular Surgeon, Senior Researcher of the Cardiovascular Surgery Department, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Russia.

ORCID: 0000-0003-4049-8715

Anastasia K. Toporkova, Cand. of Sci. (Medicine), Senior Lecturer of the Scientific and Educational Center "Dentistry", Immanuel Kant Baltic Federal University, Russia.

ORCID: 0009-0001-5215-877X

Larisa S. Litvinova, Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Professor of the Department of Fundamental Medicine and Director of the Center for Immunology and Cellular Biotechnology of the Immanuel Kant Baltic Federal University, Russia.

ORCID: 0000-0001-5231-6910

СОВРЕМЕННЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ
В БИОМЕДИЦИНЕ

2025 • $\frac{\text{ТОМ}}{\text{VOL.}}$ 1 • №1

ADVANCED TARGETS
IN BIOMEDICINE

Научное электронное издание

Редактор *Е. Т. Иванова*
Компьютерная верстка *Е. В. Денисенко*

Дата выхода в свет 15.07.2025 г.
Формат 60×90 ¹/₈. Усл. печ. л. 11,4