

Анализ связи липополисахарида с другими маркерами воспаления и клинико-функциональными характеристиками пациентов с хронической обструктивной болезнью легких вне обострения

М.И.Смирнова¹ , Д.Н.Антипушина¹, А.С.Курехян¹, Н.Г.Гуманова¹, Я.Н.Кошеляевская¹, В.А.Метельская^{1,2}, Н.Л.Богданова¹, М.С.Покровская¹, О.А.Литинская¹, А.В.Концевая¹, О.М.Драпкина¹, В.В.Макаров³, С.М.Юдин³

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации: 101990, Россия, Москва, Петроверигский пер., 10, стр. 3

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации: 123995, Россия, Москва, ул. Баррикадная, 2, стр. 1

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства: 119121, Россия, Москва, ул. Погодинская, 10 / 1

Резюме

Липополисахарид (ЛПС) грамотрицательных бактерий рассматривается как фактор патогенеза многих болезней. Также известна его роль как индуктора обострений хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), однако при стабильной ХОБЛ он изучен недостаточно. **Целью** исследования явилась оценка связи уровня ЛПС сыворотки крови с маркерами воспаления, клиническими и функциональными характеристиками пациентов с ХОБЛ вне периода обострения. **Материалы и методы.** В пилотное исследование из базы данных Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации включены больные ХОБЛ ($n = 29$) без обострений в течение ≥ 3 мес., при которых требовались антибактериальная терапия или назначение системных глюкокортикостероидов, а также пациенты без болезней органов дыхания ($n = 27$), сопоставимые по возрасту ($63,9 \pm 6,3$ года) и полу (69 % — мужчины). Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$, при $p \geq 0,05$ – $0,075$ они рассматривались как тенденция (изменение переменных в одном направлении, требующее дальнейшего изучения). **Результаты.** В группе ХОБЛ отмечена тенденция к снижению уровней ЛПС ($p = 0,062$), уровни триметиламинооксида и С-реактивного белка были значимо выше, чем в группе контроля ($p < 0,05$); уровни фибриногена и лейкоцитов не различались. Выявлены прямая корреляционная связь в группе ХОБЛ между уровнем ЛПС и качеством жизни по оценочному тесту ХОБЛ (*COPD Assessment Test*TM – CAT) ($r = 0,43$; $p = 0,019$), обратная корреляция с показателями спирометрии ($p < 0,05$) и тенденции к взаимосвязи уровня ЛПС с возрастом ($r = -0,34$; $p = 0,075$), индексом массы тела ($r = 0,34$; $p = 0,072$), окружностью талии ($r = 0,35$; $p = 0,064$) и статусом курения ($r = 0,35$; $p = 0,061$). Подобных связей в группе контроля не отмечено. Связи с обострениями ХОБЛ при проспективном наблюдении (12 мес.) также не выявлено. **Заключение.** Уровень ЛПС имеет тенденцию к различию между пациентами со стабильной ХОБЛ и без ХОБЛ, коррелирует с выраженностью симптомов и нарушений функции внешнего дыхания у больных ХОБЛ. Целесообразно проведение более крупных исследований в этой области.

Ключевые слова: липополисахарид, хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), обострение ХОБЛ, С-реактивный белок, фибриноген, триметиламинооксид, объем форсированного выдоха за 1-ю секунду, форсированная жизненная емкость легких, САТ (*COPD Assessment Test*TM) – оценочный тест по ХОБЛ.

Конфликт интересов. Конфликт интересов авторами не заявлен.

Финансирование. Работа выполнена в рамках исполнения договоров № 0373100122120000020 от 15.05.20 и № 0373100122121000005 от 05.04.21 между Федеральным государственным бюджетным учреждением «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации и Федеральным государственным бюджетным учреждением «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства при поддержке Федерального медико-биологического агентства в рамках Государственного задания № 388-00154-22-00.

Этическая экспертиза. Протоколы исследований были утверждены Независимым этическим комитетом Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 03-08/20 от 28.04.20).

Благодарности. Авторы выражают благодарность всем коллегам, участвовавшим в проведении обследования пациентов, в частности, Рудаковой Ольге Георгиевне, Соиной Татьяне Петровне.

© Смирнова М.И. и соавт., 2024

Для цитирования: Смирнова М.И., Антипушина Д.Н., Курехян А.С., Гуманова Н.Г., Кошеляевская Я.Н., Метельская В.А., Богданова Н.Л., Покровская М.С., Литинская О.А., Концевая А.В., Драпкина О.М., Макаров В.В., Юдин С.М. Анализ связи липополисахарида с другими маркерами воспаления и клинико-функциональными характеристиками пациентов с хронической обструктивной болезнью легких вне обострения. *Пульмонология*. 2024; 34 (6): 810–821. DOI: 10.18093/0869-0189-2024-34-6-810-821

Analysis of the relationship between the serum lipopolysaccharide level and other inflammation markers, clinical and functional characteristics of patients with COPD without exacerbation

Marina I. Smirnova¹ ✉, Diana N. Antipushina¹, Armine S. Kurekhyan¹, Nadezhda G. Gumanova¹, Yana N. Koshelyaevskaya¹, Victoria A. Metelskaya^{1,2}, Natalya L. Bogdanova¹, Maria S. Pokrovskaya¹, Olga A. Litinskaya¹, Anna V. Kontsevaya¹, Oksana M. Drapkina¹, Valentin V. Makarov³, Sergey M. Yudin³

¹ Federal State Budgetary Institution National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation: Petrovrigskiy per. 10, build. 3, Moscow, 101990, Russia

² Russian Federal Academy of Continued Medical Education, Healthcare Ministry of Russia: ul. Barrikadnaya 2/1, Moscow, 123995, Russia

³ Federal State Budgetary Institution “Center for Strategic Planning and Management of Medical and Biological Health Risks” Federal Medical and Biological Agency: ul. Pogodinskaya 10/1, Moscow, 119121, Russia

Abstract

Lipopolysaccharide (LPS) from gram-negative bacteria is considered a pathogenetic factor of many diseases. It is also known to include exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease (COPD), but this effect has been little studied in stable COPD. **The aim** of the study was to evaluate the relationship between serum LPS levels and inflammatory markers, clinical and functional characteristics of COPD without exacerbation. **Methods.** The pilot study included 29 patients with COPD who did not have any exacerbations requiring antibacterial therapy or systemic steroids for 3 or more months and 27 patients without respiratory diseases, matched by age and gender (63.9 ± 6.3 years, 69% men). All patient data were taken from the database of National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine. The differences were considered statistically significant at $p < 0.05$; and a trend (change of variables in one direction requiring further investigation) at $p \geq 0.05 - 0.075$. **Results.** The COPD group showed a tendency towards a lower LPS level ($p = 0.062$). The levels of TMAO and CRP were significantly lower in the control group ($p < 0.05$), and the fibrinogen and leukocyte levels did not differ. In the COPD group, a direct correlation was found between the LPS level and quality of life according to the CAT (COPD Assessment Test™) ($r = 0.43$; $p = 0.019$), an inverse correlation with the spirometry parameters ($p < 0.05$), and a trend towards an association between LPS and age ($r = -0.34$; $p = 0.075$), body mass index ($r = 0.34$; $p = 0.072$), waist circumference ($r = 0.35$; $p = 0.064$), and smoking status ($r = 0.35$; $p = 0.061$). No such relationships were seen in the control group. No relationship with exacerbations of COPD was found during the prospective follow-up (12 months). **Conclusion.** The level of LPS tends to differ between patients with stable COPD and patients without COPD, and correlates with severity of symptoms and lung function impairment in COPD patients. Further larger studies in this area are advisable.

Key words: lipopolysaccharide, chronic obstructive pulmonary disease (COPD), exacerbation of COPD, C-reactive protein, fibrinogen, trimethylamine oxide, forced expiratory volume in 1 second, forced vital capacity, CAT (COPD Assessment Test™).

Conflict of interest. The authors did not declare any conflicts of interest.

Funding. The work was carried out within the framework of the contracts No.0373100122120000020 dated 15.05.20 and No.0373100122121000005 dated 05.04.21 between the Federal State Budgetary Institution National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation and Federal State Budgetary Institution “Center for Strategic Planning and Management of Medical and Biological Health Risks” Federal Medical and Biological Agency within the framework of the State Assignment No.388-00154-22-00.

Ethical review. The research protocols were approved by the Independent Ethics Committee of the Federal State Budgetary Institution National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Protocol No.03-08/20 dated 28.04.20).

Acknowledgments. The authors express their gratitude to all colleagues who participated in the examination of patients: Olga G. Rudakova, Tatyana P. Soina.

© Smirnova M.I. et al., 2024

For citation: Smirnova M.I., Antipushina D.N., Kurekhyan A.S., Gumanova N.G., Koshelyaevskaya Ya.N., Metelskaya V.A., Bogdanova N.L., Pokrovskaya M.S., Litinskaya O.A., Kontsevaya A.V., Drapkina O.M., Makarov V.V., Yudin S.M. Analysis of the relationship between the serum lipopolysaccharide level and other inflammation markers, clinical and functional characteristics of patients with COPD without exacerbation. *Pul'monologiya*. 2024; 34 (6): 810–821 (in Russian). DOI: 10.18093/0869-0189-2024-34-6-810-821

Эндотоксин или липополисахарид (ЛПС) грамотрицательных бактерий рассматривается как фактор патогенеза многих болезней, включая хронические неинфекционные заболевания (ХНИЗ). Это обусловлено способностью ЛПС вызывать широкий спектр биологических реакций, физиологических (например, поддержание нормального иммунного ответа при воздействии малых концентраций) и патогенных. При остром или длительном воздействии большего количества эндотоксина развиваются различные эффекты, включая структурно-функциональные изменения ор-

ганов и тканей, приводящие к формированию и прогрессированию болезни.

Известна роль хронического воспаления, инициируемого ЛПС, в патогенезе атеросклероза, ожирения, бронхиальной астмы, хронической болезни почек, других ХНИЗ, его связь с сердечно-сосудистыми осложнениями и прогнозом жизни [1–6]. Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) также характеризует системным воспалением. При ХОБЛ оно наиболее выражено в период обострений [7, 8], которые зачастую индуцируют респираторные ин-

фекции [9]. Моделирование обострений ХОБЛ ингаляциями ЛПС приводит к усилению локального воспаления (увеличение количества клеток в мокроте, включая нейтрофилы) и системного (рост уровня интерлейкина (IL)-6, С-реактивного белка (СРБ), СС-16, IL-17) [10]. В экспериментах на мышах и крысах с эмфиземой, индуцированной ингаляциями эластазы, при ингаляции ЛПС усиливались воспаление и деструкция альвеол [11, 12].

При ХОБЛ вне обострения встречается колонизация дыхательных путей бактериями, поддерживающими воспаление, ведущее к прогрессированию заболевания [13]. Уровень ЛПС в системном кровотоке зависит и от состава кишечной микробиоты, проницаемости кишечной стенки [14]. Хроническое высвобождение эндотоксина кишечного происхождения также связывается с системным воспалением (активацией макрофагов, уровнем фактора некроза опухоли- α (TNF- α), IL-6, СРБ и других маркеров) [15], а состав кишечной микробиоты — с выраженностью иммунного ответа при воздействии ЛПС [16].

Поскольку влияние ЛПС на маркеры воспаления при обострении ХОБЛ изучается, представляет интерес оценка роли ЛПС у пациентов со стабильной ХОБЛ вне периода обострения. Подобных исследований на 26.05.23 в базах *PubMed*, *MedLine*, *CyberLeninka*, *eLIBRARY.ru* не обнаружено.

Целью исследования явилась оценка связи уровня ЛПС сыворотки крови с маркерами воспаления, клиническими и функциональными характеристиками пациентов с ХОБЛ вне периода обострения.

Материалы и методы

Проанализированы данные исследований по разработке методов профилактики хронических неинфекционных заболеваний, основанных на модуляции состава и функции кишечной микробиоты, из Реестра клинических испытаний *ClinicalTrials.gov* [17, 18]. Представленные работы носили поисковый характер и состояли из одномоментного сравнительного исследования и проспективного наблюдения.

В пилотное исследование из базы данных Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации включены больные ХОБЛ ($n = 29$) без обострений в течение ≥ 3 мес., при которых требовались антибактериальная терапия или назначение системных глюкокортикостероидов, а также пациенты без болезней органов дыхания ($n = 27$), сопоставимые по возрасту ($63,9 \pm 6,3$ года) и полу (69 % — мужчины).

Критерии включения пациентов с ХОБЛ:

- заключение пульмонолога или выписной эпикриз, подтверждающий ХОБЛ;

- $ОФВ_1 / ФЖЕЛ < 0,70$ после ингаляции 400 мкг салбутамола;
- стабильная терапия¹ ХОБЛ и любого ХНИЗ ≥ 4 нед. (при наличии);
- стабильная терапия¹ ≥ 12 нед.² ингаляционным глюкокортикостероидом (иГКС), если используется;
- информированное добровольное согласие на участие в исследовании;
- результаты проспективного наблюдения в течение 1 года.

Критерии включения в группу контроля:

- нормальные результаты спирометрии с бронходилатационным тестом (салбутамолом 400 мкг);
- информированное добровольное согласие на участие в исследовании.

Критерии не включения:

- возраст до 30 и старше 74 лет;
- индекс массы тела (ИМТ) ≥ 40 кг / м²;
- обострение ХНИЗ, ХОБЛ в течение 4 нед. до включения;
- обострение ХОБЛ в ближайшие 3 мес., при котором потребовалось назначение антибактериальной терапии или системных ГКС (сГКС);
- мозговой инсульт, транзиторная ишемическая атака, инфаркт миокарда в пределах 6 мес. до включения в исследование;
- ХНИЗ, потенциально влияющие на системное воспаление или функцию внешнего дыхания (ФВД): онкологические, ревматологические заболевания, тяжелая сердечная недостаточность и т. п. по данным анамнеза;
- хронические болезни органов дыхания (БОД): бронхит, бронхиальная астма, интерстициальные заболевания легких; ХОБЛ у пациентов группы контроля;
- скорость клубочковой фильтрации по формуле Кокрофта—Голта < 30 мл / мин / 1,73 м²;
- атопия с кожными и другими проявлениями;
- трансплантация органов;
- кишечная инфекция в ближайшие 3 мес.;
- инфекционные заболевания, если после выздоровления прошло < 4 нед.;
- COVID-19 тяжелого течения, вирус иммунодефицита человека, другие хронические инфекции, туберкулез по данным анамнеза;
- прием антимикробных, пробиотических препаратов и сГКС в течение последних 3 мес.;
- биологическая, иммуномодулирующая терапия;
- беременность, лактация;
- психические заболевания;
- алкоголизм, прием наркотических препаратов.

Из пациентов, соответствующих критериям включения, в группы ХОБЛ и контрольную отбирались лица, сопоставимые по полу и возрасту; с уровнем ЛПС сравнивались характеристики, полученные при

¹ Регулярный прием одного и того же препарата / препаратов в одинаковых дозах.

² Период ≥ 12 нед. выбран для большей уверенности в отсутствии влияния недавнего назначения / отмены, существенного изменения дозы иГКС на уровень маркеров воспаления и полной реализации эффекта назначенной дозы на воспаление, механизмы иммунной защиты; наиболее вероятно их могут модифицировать из препаратов, принимаемых пациентами с ХОБЛ, именно иГКС.

стандартном опросе, антропометрии, спирометрии и в исследованиях крови. В проспективном наблюдении у больных ХОБЛ оценивалась связь исходного уровня ЛПС с развившимися обострениями.

Стандартный опрос. Опрос включал в себя сбор сведений о жалобах, анамнезе заболеваний, курения, производственных факторах. Индекс курения (пачко-лет) рассчитывался по формуле:

$$\text{число сигарет, выкуриваемых в день} \times \text{стаж курения в годах} = 20$$

Качество жизни у каждого пациента группы ХОБЛ оценивалось при помощи *COPD Assessment Test* (CAT), тяжесть одышки — по модифицированной шкале Британского медицинского исследовательского совета для оценки тяжести одышки (*modified Medical Research Council Dyspnea Scale* — mMRC); у пациентов группы контроля — по mMRC.

Интерпретация результатов CAT:

- 0–10 баллов — незначительное;
- 11–20 баллов — умеренное;
- 21–30 баллов — выраженное;
- 31–40 баллов — очень серьезное влияние ХОБЛ на качество жизни.

Категоризация одышки по mMRC:

- 0 — нет одышки;
- 1 балл — легкая;
- 2 балла — средняя;
- 3 балла — тяжелая;
- 4 балла — очень тяжелая одышка.

Антропометрия. Для анализа антропометрических данных проводились измерение роста (см), массы тела (кг), окружности талии (ОТ; см) и расчет ИМТ по формуле:

$$\text{ИМТ} = \text{масса тела} / \text{рост}^2.$$

Спирометрия. Показатели спирометрии фиксировались при помощи спирометра *SpiroUSB* (*CareFusion Manufacturing Ireland 241 Limited*). ФВД оценивалась исходно и через 15–20 мин после ингаляции 400 мкг салбутамола. Анализировались показатели объема форсированного выдоха за 1-ю секунду (ОФВ_1 , в литрах и $\%$ долж.), форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ , в литрах и $\%$ долж.), их соотношение ($\text{ОФВ}_1 / \text{ФЖЕЛ}$). Результаты спирометрии соответствовали критериям качества [19].

Исследования биомаркеров крови. Кровь из периферической вены забиралась утром натощак через 8–12 ч после последнего приема пищи, воды и лекарств. В этот день оценивались количество клеток крови и гемоглобин, уровень высокочувствительного СРБ (вЧСРБ) и фибриногена. Клетки крови определялись методом флуоресцентной проточной цитометрии на анализаторе *Sysmex XS-1000* (Япония). Уровень вЧСРБ оценивался в сыворотке крови иммунотурбометрическим методом (анализатор *Architect 8000C*, *Abbott*, США), уровень фибриногена в плазме — методом Клаусса (анализатор *ACL Elite*, США).

Для оценки уровня ЛПС, триметиламинооксида (ТМАО) и других маркеров образцы биоматериала после соответствующей пробоподготовки хранились в Биобанке Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации (сертифицирован по стандарту ISO 9001:2015).

Пробоподготовка проводилась согласно международным стандартам и локальным документам. Информационное сопровождение биообразцов осуществлялось в соответствии с международными правилами [20, 21]. Венозная кровь, предназначенная для получения сыворотки, отбиралась в пробирки объемом 5 мл с желтыми крышками, с разделительным гелем. Сыворотку крови получали путем центрифугирования при 1 200 g при температуре +4 °C в течение 15 мин, затем она разделялась на аликвоты по 0,5–1,0 мл, замораживалась и хранилась при температуре –70 °C. Информация о биообразцах хранится в программе *FreezerPRO*. Для исследования из биобанка брались по 3 аликвоты сыворотки крови каждого участника.

Уровень ЛПС определялся хромогенным методом с помощью наборов *HycultBiotech Limulus Amebocyte Lysate* (LAL-тест; США), ТМАО — с помощью набора *Elisa* (каталожный номер PD-O17800E), согласно инструкциям производителей.

Концентрация IL-4, IL-6, TNF-α и интерферона (IFN)-γ определялась методом иммуноферментного анализа с помощью наборов *ThermoFisher Invitrogen* (Австрия) при предварительном двукратном разведении сыворотки. Оптическая плотность измерялась при 450 нм с помощью *Tecan Infinite M Plex 200 Pro* (Швейцария).

Проспективное наблюдение. Пациенты наблюдались в течение года 1 раз в 3 мес. Протокол визитов включал в себя сбор анамнеза, осмотр. Первичной конечной точкой считалось обострение ХОБЛ, вторичной — количество обострений за период наблюдения. Обострение ХОБЛ определялось как острое событие, характеризующееся ухудшением респираторных симптомов, выходящим за рамки их обычных ежедневных колебаний и приводящим к изменению режима терапии [22].

Статистический анализ. Обработка данных проводилась с применением SPSS (v. 21), включала методы параметрического и непараметрического анализа. Проверка параметров на нормальность распределения проведена по Колмогорову–Смирнову. Исходные количественные переменные представлены средним арифметическим значением (M) и стандартным отклонением (SD). Параметры, имеющие распределение, отличное от нормального, представлены также медианами (Me) с интерквартильным размахом (25 %; 75 %). Частота бинарных признаков сравнивалась с помощью критерия χ^2 . Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$; при $p \geq 0,05$ – $0,075$ они рассматривались как тенденция (изменение переменных в одном направлении, требующее дальнейшего изучения). Взаимосвязь ЛПС с параметрами оцени-

валась методами корреляционного анализа Пирсона и Спирмена.

Результаты

Основная характеристика пациентов. В базах данных исследований [17, 18] в числе прочих представлены пациенты с ХОБЛ ($n = 46$) и без БОД ($n = 46$). С учетом критериев включения в настоящее исследование отобраны в основную и контрольную группы 29 и 27 пациентов соответственно (табл. 1).

Пациенты группы ХОБЛ характеризовались большим числом курящих или ранее куривших (89,7 % vs 40,7 %), более высоким индексом курения, в 3 раза большим числом пациентов, перенесших пневмонию, большей выраженностью одышки и нарушениями ФВД (табл. 1, 2). У пациентов группы ХОБЛ уста-

новлено воздействие в течение ≥ 1 года следующих факторов:

- ингаляционный профессионально-производственный фактор (работа с фреоном, формалином, продуктами переработки нефти, красками, растворителями, бетонной, строительной и металлической пылью) ($n = 9$);
- работа в условиях низких температур ($n = 1$);
- ионизирующее облучение без развития лучевой болезни ($n = 1$).

У пациентов группы контроля ($n = 4$) зарегистрировано ингаляционное воздействие растворителей, трубопроводного газа, фтора, продуктов плавления оловянно-свинцовых сплавов.

По степени обструкции дыхательных путей в соответствии с Глобальной инициативой по ХОБЛ (*Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease – GOLD*)

Таблица 1
Основные характеристики групп*

Table 1
Main characteristics of the groups*

Показатель	ХОБЛ, $n = 29$	Контроль, $n = 27$	p
Возраст, годы	$63,9 \pm 6,3$	$61,6 \pm 6,6$	0,187
Мужской пол, n (%)	20 (69)	13 (48)	0,174
Длительность заболевания, годы	$4,9 \pm 4,3$	–	–
Масса тела, кг	$90,6 \pm 20,6$	$82,9 \pm 14,1$	0,113
Рост, см	$171,8 \pm 9,2$	$168,1 \pm 7,7$	0,119
ИМТ, $\text{кг} / \text{м}^2$	$30,5 \pm 5,7$	$29,3 \pm 4,6$	0,386
ОТ, см	$109,1 \pm 17,9$	$98,6 \pm 12,9$	0,016
Статус курения, n :			
• никогда не курил	3	16	< 0,001
• курит	13	2	
• курил, но бросил	13	9	
Индекс курения, пачко-лет	$37,2 \pm 30,0$	$19,5 \pm 15,9$	0,075
Наличие профессиональных вредных факторов, n	11	4	0,051
Пневмония в анамнезе, n	20	7	0,001
Оценка одышки по mMRC, баллы	$1,7 \pm 0,7$	$0,4 \pm 0,6$	< 0,001

Примечание: ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких; ИМТ – индекс массы тела; ОТ – окружность талии; mMRC (*modified Medical Research Council Dyspnea Scale*) – модифицированная шкала Британского медицинского исследовательского совета для оценки тяжести одышки; * – данные представлены как $M \pm SD$, если не указано иное.

Note: *, The data are presented as $M \pm SD$ unless stated otherwise.

Таблица 2
Параметры функции внешнего дыхания ($M \pm SD$)

Table 2
Parameters of the pulmonary function ($M \pm SD$)

Показатель	ХОБЛ ($n = 29$)	Контроль ($n = 27$)	p
ОФВ ₁ , %	$58,1 \pm 18,2$	$108,2 \pm 10,3$	< 0,001
ФЖЕЛ, %	$85,4 \pm 18,9$	$111,1 \pm 10,6$	< 0,001
ОФВ ₁ / ФЖЕЛ	$0,54 \pm 0,11$	$0,80 \pm 0,07$	< 0,001
После ингаляции сальбутамола:			
• ОФВ ₁ , %	$64,9 \pm 19,3$	$113,6 \pm 11,5$	< 0,001
• ФЖЕЛ, %	$93,6 \pm 19,9$	$115,1 \pm 11,4$	< 0,001
• ОФВ ₁ / ФЖЕЛ	$0,55 \pm 0,12$	$0,81 \pm 0,06$	< 0,001

Примечание: ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких; ОФВ₁ – объем форсированного выдоха за 1-ю секунду; ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких.

[23] пациенты с ХОБЛ были распределены следующим образом:

- 1-я – 2 (6,9 %);
- 2-я – 19 (65,5 %);
- 3-я – 5 (17,2 %);
- 4-я – 3 (10,3 %).

Средняя продолжительность ХОБЛ от момента установления диагноза составляла $4,9 \pm 4,3$ года. Группы различались по показателю ОТ при сопоставимом ИМТ (см. табл. 1); возможно, различие связано с абдоминальным ожирением, однако количественный анализ жира, его распределение в организме не оценивались, а легочная гиперинфляция может влиять на тонус и расположение диафрагмы, снижать при участии других механизмов тонус мышц передней брюшной стенки, что может вносить вклад в увеличение ОТ.

Детализация данных mMRC и SAT. У всех пациентов с ХОБЛ отмечена одышка:

- легкая – у 14 (48 %);
- средняя – у 11 (38 %);
- тяжелая – у 4 (14 %).

В группе контроля одышка отсутствовала у 16 (59,3 %) пациентов, легкая степень выявлена у 10 (37 %), средняя – у 1 (3,7 %).

По результатам оценки по SAT незначительное влияние ХОБЛ на качество жизни выявлено у 5 (17,2 %) пациентов, умеренное – у 13 (44,8 %), выраженное – у 11 (37,9 %).

Среди сопутствующих заболеваний преобладали следующие:

- у пациентов группы ХОБЛ:
 - артериальная гипертензия – 76 %;
 - ожирение – 58,6 %;
 - заболевания желудочно-кишечного тракта – 45 %;
 - опорно-двигательного аппарата – 38 %;
 - нарушения ритма сердца – 34 %;
 - атеросклероз – 31 %;
 - заболевания щитовидной железы – 31 %;
- у пациентов группы контроля:
 - артериальная гипертензия – 74 %;
 - заболевания желудочно-кишечного тракта – 48 %;
 - опорно-двигательного аппарата – 48 %;
 - ожирение – 44,4 %;
 - дислипидемия – 37 %;
 - атеросклероз – 33 % (без значимых межгрупповых различий).

У пациентов группы ХОБЛ проводилась следующая ингаляционная терапия:

- комбинации длительно действующих бронхолитических препаратов (β_2 -агонист + М-холинолитический препарат) – 17,2 %;
- длительно действующий β_2 -агонист + иГКС – 20,7 %;
- тройная терапия – 10,3 %;
- только короткодействующий β_2 -агонист – 17,2 %;
- короткодействующий β_2 -агонист + короткодействующий М-холинолитический препарат – 3,4 %;
- только иГКС – 3,4 %.

На момент включения в исследование 27,6 % пациентов с ХОБЛ не получали лечения.

Анализ биомаркеров. Для планирования объема работы проведена предварительная оценка у первых 13 пациентов с ХОБЛ [17], соответствовавших критериям исследования, уровня в сыворотке крови ЛПС, ТМАО, IL-4, IL-6, TNF- α , IFN- γ . TNF- α у всех пациентов оказался ниже порога чувствительности использованного метода. Уровни IL-4 и IL-6 были ниже порога чувствительности метода в 12 случаях, IFN- γ – в 11. На основании этих данных в дальнейшем у всех пациентов определялось количество ЛПС, ТМАО, клеток крови, вчСРБ и фибриногена.

При оценке усредненных значений параметров гемограммы в группе ХОБЛ выявлены значимо более высокие показатели количества моноцитов, концентрации гемоглобина и гематокрита; отмечалась тенденция к увеличению количества лимфоцитов и палочкоядерных нейтрофилов (табл. 3).

Поскольку часть показателей гемограммы имела распределение, отличное от нормального, проанализированы их медианы. Различия в количестве клеток крови не выявлены за исключением тенденции к повышению уровня эозинофилов у пациентов с ХОБЛ (табл. 4). При оценке других маркеров воспаления у пациентов группы ХОБЛ отмечены более высокие уровни СРБ и ТМАО, тенденция к более низкому уровню ЛПС (см. табл. 4). При этом у пациентов с ХОБЛ, использующих иГКС ($n = 7$), уровень ЛПС оказался выше, но статистически незначимо (табл. 5).

Анализ связи уровня липополисахарида с основными клиническими характеристиками пациентов. Установлено, что уровень ЛПС у больных ХОБЛ коррелировал с массой тела, курением, ОТ, ИМТ и возрастом только на уровне тенденции. В контрольной группе выявлена умеренная связь концентрации ЛПС с профессиональными факторами (табл. 6).

Уровень липополисахарида и параметры функции внешнего дыхания. В группе ХОБЛ выявлена умеренная отрицательная корреляционная связь между уровнем ЛПС и показателями ФВД по данным спирометрии, наиболее сильная – с ОФВ₁. В группе контроля такие корреляции отсутствовали (табл. 7).

Оценка связи уровня липополисахарида с биомаркерами крови. Взаимосвязей между уровнем ЛПС и количеством клеток крови, уровнем ТМАО, вчСРБ, фибриногена в обеих группах не выявлено, за исключением сильной отрицательной корреляции с уровнем палочкоядерных нейтрофилов у пациентов без БОД (табл. 8).

Уровень липополисахарида, оценка по SAT, mMRC и терапия хронической обструктивной болезни легких. Выявлена прямая корреляция между уровнем ЛПС и выраженностью симптомов ХОБЛ по SAT (общей суммой баллов): $r = 0,43$; $p = 0,019$. Взаимосвязей между концентрацией ЛПС в сыворотке крови и оценкой одышки по mMRC, препаратами ингаляционной терапии ХОБЛ, включая иГКС, не выявлено.

Анализ связи уровня липополисахарида с обострениями хронической обструктивной болезни легких. Длительность наблюдения составила 367 ± 9 дней (максимальная – 400 дней, минимальная – 357 дней).

Таблица 3
Показатели клинического анализа крови ($M \pm SD$)

Table 3
Clinical blood test parameters ($M \pm SD$)

Показатель	ХОБЛ ($n = 29$)	Контроль ($n = 27$)	p
Лейкоциты, кл. $\times 10^9 / л$	$7,4 \pm 1,5$	$6,7 \pm 1,7$	0,090
Сегментоядерные нейтрофилы, кл. $\times 10^9 / л$	$4,2 \pm 1,2$	$3,9 \pm 1,2$	0,385
Сегментоядерные нейтрофилы, %	$56,2 \pm 6,8$	$57,7 \pm 6,7$	0,407
Палочкоядерные нейтрофилы, кл. $\times 10^9 / л$	$0,04 \pm 0,04$	$0,02 \pm 0,03$	0,062
Палочкоядерные нейтрофилы, %	$0,6 \pm 0,5$	$0,3 \pm 0,5$	0,125
Лимфоциты, кл. $\times 10^9 / л$	$2,3 \pm 0,6$	$2,1 \pm 0,6$	0,069
Лимфоциты, %	$32,0 \pm 6,8$	$32,1 \pm 6,8$	0,981
Моноциты, кл. $\times 10^9 / л$	$0,6 \pm 0,2$	$0,5 \pm 0,2$	0,029
Моноциты, %	$8,1 \pm 2,0$	$7,4 \pm 1,8$	0,132
Эозинофилы, кл. $\times 10^9 / л$	$0,2 \pm 0,1$	$0,2 \pm 0,1$	0,133
Эозинофилы, %	$2,6 \pm 1,6$	$2,1 \pm 1,2$	0,158
Базофилы, кл. $\times 10^9 / л$	$0,03 \pm 0,03$	$0,03 \pm 0,03$	0,494
Базофилы, %	$0,4 \pm 0,4$	$0,4 \pm 0,4$	0,802
Тромбоциты, кл. $\times 10^9 / л$	$216,9 \pm 47,9$	$228,1 \pm 44,5$	0,369
Эритроциты, кл. $\times 10^9 / л$	$4,9 \pm 0,4$	$4,8 \pm 0,4$	0,143
Гемоглобин, г / л	$150,8 \pm 14,1$	$143,9 \pm 10,9$	0,044
Гематокрит, %	$44,9 \pm 4,0$	$42,9 \pm 3,0$	0,038
СОЭ, мм / ч	$9,0 \pm 7,8$	$9,7 \pm 7,5$	0,745

Примечание: ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких; СОЭ – скорость оседания эритроцитов.

Таблица 4
Сравнение биомаркеров с распределением значений, отличным от нормального; Me (25; 75 %)

Table 4
Comparison of the biomarkers with non-normal distribution of values; Me (25; 75 %)

Показатель	ХОБЛ, $n = 29$	Контроль, $n = 27$	p
Лейкоциты, кл. $\times 10^9 / л$	7,4 (7,0; 8,6)	6,8 (5,7; 7,9)	0,403
Нейтрофилы, кл. $\times 10^9 / л$	4,3 (3,2; 5,0)	3,8 (3,9; 4,4)	0,285
Палочкоядерные нейтрофилы, кл. $\times 10^9 / л$	0 (0; 0,04)	0 (0; 0)	0,402
Лимфоциты, кл. $\times 10^9 / л$	2,3 (2,0; 2,8)	2,2 (1,8; 2,5)	1,000
Моноциты, кл. $\times 10^9 / л$	0,6 (0,5; 0,7)	0,5 (0,4; 0,6)	0,178
Эозинофилы, кл. $\times 10^9 / л$	0,2 (0,1; 0,2)	0,1 (0,1; 0,2)	0,060
Базофилы, кл. $\times 10^9 / л$	0,02 (0; 0,05)	0,02 (0; 0,04)	0,563
Тромбоциты, кл. $\times 10^9 / л$	216 (175; 252)	238 (211; 252)	0,593
ЛПС, пг / мл	1,5 (1,2; 2,2)	2,4 (1,6; 3,1)	0,062
ТМАО, мкмоль / л	22,4 (7,2; 29,0)	12,4 (5,9; 19,3)	0,032
вЧСРБ, мг / л	2,1(0,9; 3,9)	1,0 (0,6; 1,6)	0,032
Фибриноген, г / л	4,0 (3,7; 4,8)	3,6 (3,3; 4,4)	0,178

Примечание: ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких, ЛПС – липополисахарид; вЧСРБ – высокочувствительный С-реактивный белок; ТМАО – триметиламиноксид.

У 16 (55,2 %) пациентов зарегистрировано следующее число обострений ХОБЛ:

- 1 ($n = 11$);
- 2 ($n = 2$);
- 3 ($n = 1$);
- 4 ($n = 1$);
- 7 ($n = 1$).

Уровень ЛПС при включении в исследование у пациентов с обострениями и без таковых не различался ($2,0 \pm 1,0$ МЕ / мл vs $1,9 \pm 1,7$ МЕ / мл; $p = 0,772$). Взаимосвязи уровня ЛПС с первичной и вторичной конечными точками не выявлено ($r = 0,21$; $p = 0,281$ и $r = 0,09$; $p = 0,648$ соответственно).

Таблица 5
Уровень липополисахарида в сыворотке крови у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких в зависимости от приема ингаляционных глюкокортикостероидов

Table 5
Serum lipopolysaccharide levels in the patients with chronic obstructive pulmonary disease depending on the intake of inhaled corticosteroids

Показатель	Принимали ИГКС	Не принимали ИГКС
Число пациентов, л (%)	7 (24)	22 (76)
ЛПС, МЕ / мл	2,2 (1,3; 3,1)	1,4 (1,1; 2,1)*

Примечание: ИГКС – ингаляционные глюкокортикостероиды; ЛПС – липополисахарид; ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких; * – $p = 0,149$.

Note: *, $p = 0,149$.

Таблица 6
Оценка связи уровня липополисахарида с основными характеристиками пациентов (корреляции Пирсона и Спирмена)

Table 6
Assessment of the relationship between lipopolysaccharide levels and main characteristics of the patients (Pearson and Spearman correlations)

Показатель	ХОБЛ		Контроль	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Возраст	–0,34	0,075	0,15	0,463
Масса тела	0,36	0,053	0,09	0,642
Рост	0,18	0,364	–0,14	0,473
ИМТ	0,34	0,072	0,19	0,357
Окружность талии	0,35	0,064	0,22	0,263
Мужской пол	–0,30	0,110	–0,03	0,869
Курение	0,35	0,061	–0,16	0,437
Индекс курения, пачко-лет	–0,11	0,611	–0,19	0,585
Пневмония в анамнезе	–0,004	0,982	–0,65	0,747
Вредные профессиональные факторы	0,03	0,878	0,40	0,038

Примечание: ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких; ИМТ – индекс массы тела.

Таблица 7
Связь уровня липополисахарида с показателями функции внешнего дыхания (корреляция Пирсона)

Table 7
Correlation of lipopolysaccharide levels with the pulmonary function (Pearson correlation)

Показатель	ХОБЛ		Контроль	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
ОФВ ₁ * ¹	–0,42	0,023	0,20	0,329
ОФВ ₁ * после ингаляции сальбутамола	–0,48	0,009	0,18	0,374
ФЖЕЛ*	–0,35	0,064	0,18	0,366
ФЖЕЛ* после ингаляции сальбутамола	–0,38	0,044	0,01	0,972
ОФВ ₁ / ФЖЕЛ	–0,39	0,035	0,03	0,884
ОФВ ₁ / ФЖЕЛ после ингаляции сальбутамола	–0,36	0,051	0,24	0,238

Примечание: ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких; ОФВ₁ – объем форсированного выдоха за 1-ю секунду, ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких; * – показатель выражен в процентах от должного, с фактическими значениями связи не установлено.

Note: *, A percentage of the expected value, no connection has been established with the actual values.

Обсуждение

Низкие концентрации ЛПС, выявляемые в крови у здоровых людей, позволяют рассматривать эндотоксин как фактор, необходимый для нормального развития иммунной системы и поддержания работоспособности ее

адаптационных и защитных механизмов. При концентрации эндотоксина выше физиологической развивается комплекс реакций, в которые вовлечены комплемент, клетки крови, эндотелиоциты, другие факторы клеточного и гуморального иммунитета [4], активирующие и поддерживающие системное воспаление.

Таблица 8
Оценка связи уровня липополисахарида с биомаркерами крови (корреляция Пирсона)Table 8
Assessment of the relationship between lipopolysaccharide levels and blood biomarkers (Pearson correlation)

Показатель	ХОБЛ		Контроль	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Лейкоциты	0,13	0,494	–0,13	0,519
Сегментоядерные нейтрофилы	–0,01	0,962	–0,11	0,585
Палочкоядерные нейтрофилы	–0,04	0,893	–0,62	0,022
Лимфоциты	0,28	0,149	0,07	0,723
Моноциты	–0,00	0,989	–0,28	0,182
Эозинофилы	0,15	0,437	–0,21	0,293
Базофилы	–0,26	0,181	–0,07	0,733
Тромбоциты	–0,02	0,910	0,05	0,787
Эритроциты	0,23	0,235	–0,06	0,778
Гемоглобин	0,16	0,420	–0,02	0,911
Гематокрит	0,15	0,433	–0,13	0,530
ТМАО	–0,23	0,238	–0,07	0,738
вЧСРБ	–0,06	0,774	–0,18	0,370
Фибриноген	0,05	0,784	–0,04	0,853

Примечание: ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких; вЧСРБ – высокочувствительный С-реактивный белок; ТМАО – триметиламиноксид.

Поскольку ХОБЛ ассоциирована с системным воспалением [23], можно предположить, что даже вне обострения уровень ЛПС, вероятно, может быть связан с маркерами воспаления, а также характеристиками ХОБЛ, включая обострения, и может быть выше, чем у пациентов без БОД. Однако вопреки указанному предположению выявлена тенденция к более высокому уровню ЛПС у пациентов группы контроля ($p = 0,062$) (см. табл. 4). Возможно, у больных ХОБЛ уровень ЛПС относительно ниже в связи с вероятным использованием для лечения обострений антибактериальных препаратов, прием которых оказывал влияние на грамотрицательные бактерии (за 12 мес. перед включением в исследование у 72,4 % пациентов отмечено не менее 1 обострения). Другой причиной могут быть отличия состава микробиома пациентов. При относительно низкой концентрации ЛПС могут не обеспечивать у больных ХОБЛ устойчивость иммунной системы к инфекционным агентам. Низок ли уровень ЛПС у пациентов до развития ХОБЛ, является ли дополнительным предиктором развития ХОБЛ, в т. ч. у пациентов, чаще переносивших пневмонии (см. табл. 1), и соответственно, принимавших антибактериальные препараты, остается неизвестным.

Нельзя исключить также, что уровень ЛПС у пациентов с ХОБЛ вне обострения может зависеть и от тяжести течения заболевания, сопутствующей патологии и используемой терапии. Например, терапия иГКС за счет иммуносупрессивного действия препаратов может способствовать микробной контаминации эпителия дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта [24–26]. Однако по результатам представленного пилотного исследования оценить это не представ-

ляется возможным по причине немногочисленности когорты.

Несмотря на то, что уровень ЛПС в группе ХОБЛ оказался несколько ниже, уровень таких маркеров воспаления, как СРБ и ТМАО, был выше (см. табл. 4), что совпадает с данными других исследований [27, 28]. Отсутствие корреляции между уровнем ЛПС и лейкоцитов, СРБ и фибриногена (см. табл. 8), по-видимому, свидетельствует о том, что уровень эндотоксина вне обострения ХОБЛ мал для влияния на основные маркеры системного воспаления. Отсутствие связи ЛПС с уровнем ТМАО, образующегося из продуктов жизнедеятельности кишечного микробиома и провоцирующего окислительный стресс, эндотелиальную дисфункцию, может быть обусловлено составом микробиоты [29].

В группе контроля корреляцию ЛПС с уровнем палочкоядерных нейтрофилов, по-видимому, следует рассматривать как «статистический шум», однако необходимо при этом обратить внимание на связь уровня ЛПС с ингаляционными профессиональными факторами, хотя в группе контроля связей уровня ЛПС с параметрами ФВД не установлено (см. табл. 7).

Основным результатом работы явилось обнаружение у больных ХОБЛ без обострений в течение ≥ 1 мес. связи уровня ЛПС сыворотки крови как с ОФВ₁, так и ФЖЕЛ, а также с выраженностью респираторных симптомов, что подтверждает роль ЛПС в ремоделировании нижних дыхательных путей (см. табл. 7) [11–13]. Целесообразно дальнейшее изучение эффектов ЛПС у больных ХОБЛ, например, влияние на активность протеаз и антипротеаз, продукцию коллагена и других факторов, ассоциированных с ремоделированием бронхиального дерева и легочной ткани.

Доказательство отсутствия связи уровня ЛПС с маркерами воспаления и обострениями ХОБЛ, по-видимому, следует считать преждевременным, т. к. в представленном пилотном проекте когорты пациентов была относительно малой. Тенденции к корреляции уровня ЛПС с возрастом, массой тела, ИМТ, окружностью талии у больных ХОБЛ также нуждаются в дополнительной оценке.

Ограничения исследования. Число обследованных пациентов было относительно небольшим и не позволило не только оценить связь ЛПС с рядом других характеристик ХОБЛ, но и провести многофакторный анализ и интерполировать результаты на популяцию больных ХОБЛ. Терапию ХОБЛ на момент включения получали 65,5 % пациентов, что могло повлиять на результаты, в частности, оценку связи уровня ЛПС с ИГКС.

Заключение

Установлена тенденция к различию уровней ЛПС сыворотки крови между пациентами с ХОБЛ и без БОД, который у больных ХОБЛ вне обострения связан с нарушениями ФВД и выраженностью симптомов. Требуются более крупные исследования для уточнения полученных данных, патогенеза выявленной взаимосвязи, состава микробиома кишечника и дыхательных путей, изучение связи уровня ЛПС с терапией, сопутствующими заболеваниями, обострениями и другими факторами.

Литература

- Verhaar B.J.H., Prodan A., Nieuwdorp M., Muller M. Gut microbiota in hypertension and atherosclerosis: a review. *Nutrients*. 2020; 12 (10): 2982. DOI: 10.3390/nu12102982.
- Boutagy N.E., McMillan R.P., Frisard M.I., Hulver M.W. Metabolic endotoxemia with obesity: Is it real and is it relevant? *Biochimie*. 2016; 124: 11–20. DOI: 10.1016/j.biochi.2015.06.020.
- Thorne P.S. Environmental endotoxin exposure and asthma. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 2021; 148 (1): 61–63. DOI: 10.1016/j.jaci.2021.05.004.
- Ватазин А.В., Зулкарнаев А.Б. Эндотоксин и хроническое воспаление при хронической болезни почек. *Нефрология*. 2016; 20 (6): 26–32. Доступно на: https://journal.nephrolog.ru/jour/article/view/232?locale=ru_RU/.
- McIntyre C.W., Harrison L.E., Eldehni M.T. et al. Circulating endotoxemia: a novel factor in systemic inflammation and cardiovascular disease in chronic kidney disease. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2011; 6 (1): 133–141. DOI: 10.2215/CJN.04610510.
- Michel O., Kips J., Duchateau J. et al. Severity of asthma is related to endotoxin in house dust. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1996; 154 (6, Pt 1): 1641–1646. DOI: 10.1164/ajrccm.154.6.8970348.
- Rohde G., Borg I., Wiethege A. et al. Inflammatory response in acute viral exacerbations of COPD. *Infection*. 2008; 36 (5): 427–433. DOI: 10.1007/s15010-008-7327-5.
- Søyseth V., Kononova N., Neukamm A. et al. Systemic inflammation induced by exacerbation of COPD or pneumonia in patients with COPD induces cardiac troponin elevation. *BMJ Open Respir. Res.* 2021; 8 (1): e000997. DOI: 10.1136/bmjresp-2021-000997.
- Miravittles M., Anzueto A. Role of infection in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2015; 21 (3): 278–283. DOI: 10.1097/MCP.0000000000000154.
- Gupta V., Banyard A., Mullan A. et al. Characterization of the inflammatory response to inhaled lipopolysaccharide in mild to moderate chronic obstructive pulmonary disease. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2015; 79 (5): 767–776. DOI: 10.1111/bcp.12546.
- Kobayashi S., Fujinawa R., Ota F. et al. A single dose of lipopolysaccharide into mice with emphysema mimics human chronic obstructive pulmonary disease exacerbation as assessed by micro-computed tomography. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2013; 49 (6): 971–977. DOI: 10.1165/rcmb.2013-0074OC.
- de Oliveira M.V., Rocha N.N., Santos R.S. et al. Endotoxin-induced emphysema exacerbation: a novel model of chronic obstructive pulmonary disease exacerbations causing cardiopulmonary impairment and diaphragm dysfunction. *Front. Physiol.* 2019; 10: 664. DOI: 10.3389/fphys.2019.00664.
- Leung J.M., Tiew P.Y., Mac Aogáin M. et al. The role of acute and chronic respiratory colonization and infections in the pathogenesis of COPD. *Respirology*. 2017; 22 (4): 634–650. DOI: 10.1111/resp.13032.
- Sandek A., Bjarnason I., Volk H.D. et al. Studies on bacterial endotoxin and intestinal absorption function in patients with chronic heart failure. *Int. J. Cardiol.* 2012; 157 (1): 80–85. DOI: 10.1016/j.ijcard.2010.12.016.
- Collins P.E., Carmody R.J. The regulation of endotoxin tolerance and its impact on macrophage activation. *Crit. Rev. Immunol.* 2015; 35 (4): 293–323. DOI: 10.1615/critrevimmunol.2015015495.
- Tang J., Xu L., Zeng Y., Gong F. Effect of gut microbiota on LPS-induced acute lung injury by regulating the TLR4/NF- κ B signaling pathway. *Int. Immunopharmacol.* 2021; 91: 107272. DOI: 10.1016/j.intimp.2020.107272.
- ClinicalTrials.gov* ID: NCT04820556. Gut microbiota in chronic noncommunicable diseases. 2022. Available at: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT04820556>
- ClinicalTrials.gov* ID: NCT04802317. Intestinal microbiota in COPD and asthma (MicObAs). 2023. Available at: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT04802317>
- Чучалин А.Г., Айсанов З.Р., Чикина С.Ю. и др. Федеральные клинические рекомендации по использованию метода спирометрии. 2013. Доступно на: <https://minzdrav.gov-murman.ru/documents/poryadki-okazaniya-meditsinskoy-pomoshchi/spirometry.pdf> [Дата обращения: 13.12.23].
- Moore H.M., Kelly A., Jewell S.D. et al. Biospecimen reporting for improved study quality. *Biopreserv. Biobank*. 2011; 9 (1): 57–70. DOI: 10.1089/bio.2010.0036.
- Сивакова О.В., Покровская М.С., Метельская В.А. и др. Международные правила описания биообразцов – важный фактор повышения качества научных исследований. *Профилактическая медицина*. 2019; 22 (6–2): 95–99. DOI: 10.17116/profmed20192206295.
- Министерство здравоохранения Российской Федерации. Клинические рекомендации: Хроническая обструктивная болезнь легких. 2021. Доступно на: https://spulmo.ru/upload/kr/HOBL_2021.pdf [Дата обращения: 13.12.23].
- Agusti A., Celli B.R., Criner G.J. et al. Global initiative for chronic obstructive lung disease 2023 report: GOLD executive summary. *Eur. Respir. J.* 2023; 61 (4): 2300239. DOI: 10.1183/13993003.00239-2023.
- Williams D.M. Clinical pharmacology of corticosteroids. *Respir. Care*. 2018; 63 (6): 655–670. DOI: 10.4187/respcare.06314.
- Архипов В.В. Клиническая фармакология ингаляционных глюкокортикостероидов. *Практическая пульмонология*. 2014; (1): 57–64. Доступно на: http://www.atmosphere-ph.ru/modules/Magazines/articles/pulmo/AP_1_2014_57.pdf
- Tena-Garitaonandia M., Arredondo-Amador M., Mascaraque C. et al. Modulation of intestinal barrier function by glucocorticoids: Lessons from preclinical models. *Pharmacol. Res.* 2022; 177: 106056. DOI: 10.1016/j.phrs.2022.106056.
- Ottiger M., Nickler M., Steuer C. et al. Gut, microbiota-dependent trimethylamine-N-oxide is associated with long-term all-cause mortality in patients with exacerbated chronic obstructive pulmonary disease. *Nutrition*. 2018; 45: 135–141.e1. DOI: 10.1016/j.nut.2017.07.001.
- Silva D.R., Gazzana M.B., Knorst M.M. C-reactive protein levels in stable COPD patients: a case-control study. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2015; 10: 1719–1725. DOI: 10.2147/COPD.S87015.
- Liu Y., Dai M. Trimethylamine N-oxide generated by the gut microbiota is associated with vascular inflammation: new insights into atherosclerosis. *Mediators Inflamm.* 2020; 2020: 4634172. DOI: 10.1155/2020/4634172.

Поступила: 27.12.23
Принята к печати: 23.04.24

References

- Verhaar B.J.H., Prodan A., Nieuwdorp M., Muller M. Gut microbiota in hypertension and atherosclerosis: a review. *Nutrients*. 2020; 12 (10): 2982. DOI: 10.3390/nu12102982.
- Boutagy N.E., McMillan R.P., Frisard M.I., Hulver M.W. Metabolic endotoxemia with obesity: Is it real and is it relevant? *Biochimie*. 2016; 124: 11–20. DOI: 10.1016/j.biochi.2015.06.020.
- Thorne P.S. Environmental endotoxin exposure and asthma. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 2021; 148 (1): 61–63. DOI: 10.1016/j.jaci.2021.05.004.
- Vatazin A.V., Zulkarnaev A.B. [Endotoxin and chronic inflammation in patients with chronic kidney disease]. *Nefrologiya*. 2016; 20 (6): 26–32. Available at: https://journal.nephrolog.ru/jour/article/view/232?locale=ru_RU/ (in Russian).
- McIntyre C.W., Harrison L.E., Eldehni M.T. et al. Circulating endotoxemia: a novel factor in systemic inflammation and cardiovascular disease in chronic kidney disease. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2011; 6 (1): 133–141. DOI: 10.2215/CJN.04610510.
- Michel O., Kips J., Duchateau J. et al. Severity of asthma is related to endotoxin in house dust. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1996; 154 (6, Pt 1): 1641–1646. DOI: 10.1164/ajrcm.154.6.8970348.
- Rohde G., Borg I., Wiethege A. et al. Inflammatory response in acute viral exacerbations of COPD. *Infection*. 2008; 36 (5): 427–433. DOI: 10.1007/s15010-008-7327-5.
- Soyseth V., Kononova N., Neukamm A. et al. Systemic inflammation induced by exacerbation of COPD or pneumonia in patients with COPD induces cardiac troponin elevation. *BMJ Open Respir. Res.* 2021; 8 (1): e000997. DOI: 10.1136/bmjresp-2021-000997.
- Miravittles M., Anzueto A. Role of infection in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2015; 21 (3): 278–283. DOI: 10.1097/MCP.0000000000000154.
- Gupta V., Banyard A., Mullan A. et al. Characterization of the inflammatory response to inhaled lipopolysaccharide in mild to moderate chronic obstructive pulmonary disease. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2015; 79 (5): 767–776. DOI: 10.1111/bcp.12546.
- Kobayashi S., Fujinawa R., Ota F. et al. A single dose of lipopolysaccharide into mice with emphysema mimics human chronic obstructive pulmonary disease exacerbation as assessed by micro-computed tomography. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2013; 49 (6): 971–977. DOI: 10.1165/rcmb.2013-0074OC.
- de Oliveira M.V., Rocha N.N., Santos R.S. et al. Endotoxin-induced emphysema exacerbation: a novel model of chronic obstructive pulmonary disease exacerbations causing cardiopulmonary impairment and diaphragm dysfunction. *Front. Physiol.* 2019; 10: 664. DOI: 10.3389/fphys.2019.00664.
- Leung J.M., Tiew P.Y., Mac Aogáin M. et al. The role of acute and chronic respiratory colonization and infections in the pathogenesis of COPD. *Respirology*. 2017; 22 (4): 634–650. DOI: 10.1111/resp.13032.
- Sandek A., Bjarnason I., Volk H.D., et al. Studies on bacterial endotoxin and intestinal absorption function in patients with chronic heart failure. *Int. J. Cardiol.* 2012; 157 (1): 80–85. DOI: 10.1016/j.ijcard.2010.12.016.
- Collins P.E., Carmody R.J. The regulation of endotoxin tolerance and its impact on macrophage activation. *Crit. Rev. Immunol.* 2015; 35 (4): 293–323. DOI: 10.1615/critrevimmunol.2015015495.
- Tang J., Xu L., Zeng Y., Gong F. Effect of gut microbiota on LPS-induced acute lung injury by regulating the TLR4/NF- κ B signaling pathway. *Int. Immunopharmacol.* 2021; 91: 107272. DOI: 10.1016/j.intimp.2020.107272.
- ClinicalTrials.gov ID: NCT04820556. Gut microbiota in chronic noncommunicable diseases. 2022. Available at: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT04820556>
- ClinicalTrials.gov ID: NCT04802317. Intestinal microbiota in COPD and asthma (MicObAs). 2023. Available at: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT04802317>
- Chuchalin A.G., Aisanov Z.R., Chikina S.Yu. et al. [Federal guidelines for the use of the spirometry method]. 2013. Available at: <https://minzdrav.gov-murman.ru/documents/poryadki-okazaniya-meditsinskoy-pomoshchi/spirometry.pdf> [Accessed: December 13, 2023] (in Russian).
- Moore H.M., Kelly A., Jewell S.D. et al. Biospecimen reporting for improved study quality. *Biopreserv. Biobank*. 2011; 9 (1): 57–70. DOI: 10.1089/bio.2010.0036.
- Sivakova O.V., Pokrovskaya M.S., Metelskaya V.A. et al. [International rules for description of biospecimens are an important factor in improving the quality of researches]. *Profilakticheskaya meditsina*. 2019; 22 (6-2): 91–97. DOI: 10.17116/profmed20192206295 (in Russian).
- Ministry of Health of the Russian Federation. [Federal guidelines: Chronic obstructive pulmonary disease]. 2021. Available at: https://spulmo.ru/upload/kr/HOBL_2021.pdf [Accessed: December 13, 2023] (in Russian).
- Agusti A., Celli B.R., Criner G.J. et al. Global initiative for chronic obstructive lung disease 2023 report: GOLD executive summary. *Eur. Respir. J.* 2023; 61 (4): 2300239. DOI: 10.1183/13993003.00239-2023.
- Williams D.M. Clinical pharmacology of corticosteroids. *Respir. Care*. 2018; 63 (6): 655–670. DOI: 10.4187/respcare.06314.
- Arkhipov V.V. [Clinical pharmacology of inhaled glucocorticosteroids]. *Prakticheskaya pulmonologiya*. 2014; (1): 57–64. Available at: http://www.atmosphere-ph.ru/modules/Magazines/articles/pulmo/AP_1_2014_57.pdf (in Russian).
- Tena-Garitaonandia M., Arredondo-Amador M., Mascaraque C. et al. Modulation of intestinal barrier function by glucocorticoids: Lessons from preclinical models. *Pharmacol. Res.* 2022; 177: 106056. DOI: 10.1016/j.phrs.2022.106056.
- Ottiger M., Nickler M., Steuer C. et al. Gut, microbiota-dependent trimethylamine-N-oxide is associated with long-term all-cause mortality in patients with exacerbated chronic obstructive pulmonary disease. *Nutrition*. 2018; 45: 135–141.e1. DOI: 10.1016/j.nut.2017.07.001.
- Silva D.R., Gazzana M.B., Knorst M.M. C-reactive protein levels in stable COPD patients: a case-control study. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2015; 10: 1719–1725. DOI: 10.2147/COPD.S87015.
- Liu Y., Dai M. Trimethylamine N-oxide generated by the gut microbiota is associated with vascular inflammation: new insights into atherosclerosis. *Mediators Inflamm.* 2020; 2020: 4634172. DOI: 10.1155/2020/4634172.

Received: December 27, 2023

Accepted for publication: April 23, 2024

Информация об авторах / Authors Information

Смирнова Марина Игоревна — к. м. н., руководитель лаборатории профилактики хронических болезней органов дыхания Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (499) 553-68-99; e-mail: msmirnova@gnicpm.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6208-3038>)

Marina I. Smirnova, Candidate of Medicine, Head of Laboratory for Prevention of Chronic Respiratory Diseases, Federal State Budgetary Institution National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation; tel.: (499) 553-68-99; e-mail: msmirnova@gnicpm.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6208-3038>)

Антипушина Диана Николаевна — к. м. н., старший научный сотрудник лаборатории профилактики хронических болезней органов дыхания Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

тел.: (499) 553-68-99; e-mail: dantipushina@gnicpm.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9267-4931>)

Diana N. Antipushina, Candidate of Medicine, Senior Researcher, Laboratory for Prevention of Chronic Respiratory Diseases, Federal State Budgetary Institution National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation; tel.: (499) 553-68-99; e-mail: dantipushina@gnicpm.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9267-4931>)

Курехян Армине Сарбековна — научный сотрудник лаборатории профилактики хронических болезней органов дыхания Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (499) 553-68-99; e-mail: arminesar@mail.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8498-7030>)

Armine S. Kurekhyan, Researcher, Laboratory of Prevention of Chronic Respiratory Diseases, Federal State Budgetary Institution National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine of the Ministry of Healthcare

of the Russian Federation; tel.: (499) 553-68-99; e-mail: arminesar@mail.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8498-7030>)

Гуманова Надежда Георгиевна — к. б. н., ведущий научный сотрудник Центра координации фундаментальной научной деятельности Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (499) 553-68-99; e-mail: ngumanova@gnicpm.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6108-3538>)

Nadezhda G. Gumanova, Candidate of Biology, Leading Researcher, Center for Coordination of Fundamental Scientific Activity, Federal State Budgetary Institution National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation; tel.: (499) 553-68-99; e-mail: ngumanova@gnicpm.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6108-3538>)

Кошелевская Яна Николаевна — программист лаборатории применения амбулаторных диагностических методов в профилактике хронических неинфекционных заболеваний Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (499) 553-68-99; e-mail: ykoshelyaevskaya@gnicpm.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5187-6190>)

Yana N. Koshelyaevskaya, Programmer, Laboratory for the use of Outpatient Diagnostic Methods in the Prevention of Chronic Non-Communicable Diseases, Federal State Budgetary Institution National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation; tel.: (499) 553-68-99; e-mail: ykoshelyaevskaya@gnicpm.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5187-6190>)

Метельская Виктория Алексеевна — д. б. н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории изучения биохимических маркеров риска хронических неинфекционных заболеваний имени Н.В.Перовой отдела фундаментальных и прикладных аспектов ожирения Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации; профессор кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом лабораторной иммунологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (499) 553-68-14; e-mail: vmetelskaya@gnicpm.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8665-9129>)

Victoria A. Metelskaya, Doctor of Biology, Professor, Chief Researcher, Laboratory for the Study of Biochemical Markers of Chronic Non-Communicable Disease Risk named after N.V.Perova, Department of Fundamental and Applied Aspects of Obesity, Federal State Budgetary Institution National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation; Professor, Department of Clinical Laboratory Diagnostics with a course in laboratory immunology, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (499) 553-68-14; e-mail: vmetelskaya@gnicpm.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8665-9129>)

Богданова Наталья Леонидовна — младший научный сотрудник Центра координации фундаментальной научной деятельности Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (499) 553-68-99; e-mail: nlbogdanova@gnicpm.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3124-5655>)

Natalya L. Bogdanova, Junior Researcher, Center for Coordination of Fundamental Scientific Activity, Federal State Budgetary Institution National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation; tel.: (499) 553-68-99; e-mail: nlbogdanova@gnicpm.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3124-5655>)

Покровская Мария Сергеевна — ведущий научный сотрудник, руководитель лаборатории «Банк биологического материала» Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский

исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (499) 553-68-99; e-mail: mpokrovskaya@gnicpm.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6985-7131>)

Maria S. Pokrovskaya, Leading Researcher, Head of the Laboratory "Bank of Biological Material", Federal State Budgetary Institution National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation; tel.: (499) 553-68-99; e-mail: mpokrovskaya@gnicpm.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6985-7131>)

Литинская Ольга Анатольевна — к. м. н., заведующая клинико-диагностической лабораторией Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (499) 553-68-99; e-mail: olitinskaya@gnicpm.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0003-2681>)

Olga A. Litinskaya, Candidate of Medicine, Head of the Clinical Diagnostic Laboratory, Federal State Budgetary Institution National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation; tel.: (499) 553-68-99; e-mail: olitinskaya@gnicpm.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0003-2681>)

Концевая Анна Васильевна — д. м. н., доцент, заместитель директора по научной и аналитической работе Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (499) 553-68-99; e-mail: akontsevaya@gnicpm.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2062-1536>)

Anna V. Kontsevaya, Doctor of Medicine, Associate Professor, Deputy Director for Research and Analytical Work, Federal State Budgetary Institution National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation; tel.: (499) 553-68-99; e-mail: akontsevaya@gnicpm.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2062-1536>)

Драпкина Оксана Михайловна — д. м. н., профессор, академик Российской академии наук, директор Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (499) 553-68-99; e-mail: odrapkina@gnicpm.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4453-8430>)

Oksana M. Drapkina, Doctor of Medicine, Professor, Academician of Russian Academy of Sciences, Director, Federal State Budgetary Institution National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation; tel.: (499) 553-68-99; e-mail: odrapkina@gnicpm.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4453-8430>)

Макаров Валентин Владимирович — к. б. н., заместитель директора Института синтетической биологии и геномной инженерии по научно-экспериментальной работе Федерального государственного бюджетного учреждения «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровья» Федерального медико-биологического агентства; тел.: (495) 540-61-71; e-mail: makarov@cspfmmba.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9495-0266>)

Valentin V. Makarov, Candidate of Biology, Deputy Director, Institute of Synthetic Biology and Genetic Engineering for Scientific and Experimental Work, Federal State Budgetary Institution "Center for Strategic Planning and Management of Medical and Biological Health Risks" Federal Medical and Biological Agency; tel.: (495) 540-61-71; e-mail: makarov@cspfmmba.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9495-0266>)

Юдин Сергей Михайлович — д. м. н., профессор, генеральный директор Федерального государственного бюджетного учреждения «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровья» Федерального медико-биологического агентства; тел.: (495) 540-61-71; e-mail: yudin@cspfmz.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7942-8004>)

Sergey M. Yudin, Doctor of Medicine, Professor, General Director, Federal State Budgetary Institution "Center for Strategic Planning and Management of Medical and Biological Health Risks" Federal Medical and Biological Agency; tel.: (495) 540-61-71; e-mail: yudin@cspfmz.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7942-8004>)

Участие авторов

Смирнова М.И. — концепция и дизайн исследования, анализ и интерпретация полученных данных, написание текста

Антипушина Д.Н. — сбор и обработка материала, анализ и интерпретация полученных данных, написание текста

Курехян А.С., Богданова Н.Л., Покровская М.С., Литинская О.А. — сбор и обработка материала

Гуманова Н.Г. — анализ и интерпретация полученных данных

Кошелевская Я.Н. — статистическая обработка данных

Метельская В.А., Концевая А.В. — редактирование текста

Драпкина О.М., Макаров В.В., Юдин С.М. — утверждение окончательного варианта статьи

Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации, несут ответственность за целостность всех частей статьи.

Authors Contribution

Smirnova M.I. — concept and design of the study, analysis and interpretation of the obtained data, writing the text

Antipushina D.N. — collection and processing of the material, analysis and interpretation of the obtained data, writing the text

Kurekhyan A.S., Bogdanova N.L., Pokrovskaya M.S., Litinskaya O.A. — collection and processing of the material

Gumanova N.G. — analysis and interpretation of the obtained data

Koshelyaevskaya Ya.N. — statistical processing of the data

Metelskaya V.A., Kontsevaya A.V. — editing the text

Drapkina O.M., Makarov V.V., Yudin S.M. — approval of the final version of the article

All authors made a significant contribution to the search, analysis, and preparation of the article, read and approved the final version before publication, and are responsible for the integrity of all parts of the article.